

**IDENTIFICACION DE FACTORES DE RIESGO DE TUBERCULOSIS BOVINA  
EN RODEOS LECHEROS**

Carlos Javier Garro

Trabajo de tesis para ser presentado como requisito parcial para optar al título de

**MAGISTER SCIENTIAE en SANIDAD ANIMAL**

**PROGRAMA DE POSGRADO EN CIENCIAS AGRARIAS  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS  
UNIVERSIDAD NACIONAL DE MAR DEL PLATA  
Estación Experimental Agropecuaria Balcarce  
Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria**

Balcarce, Argentina

Septiembre 2009

**IDENTIFICACION DE FACTORES DE RIESGO DE TUBERCULOSIS BOVINA  
EN RODEOS LECHEROS**

Carlos Javier Garro

.....  
Fernando A. Paolicchi, M.V. M. Sc.  
Director de Tesis

.....  
Emilio A. León M.V. PhD.  
Asesor

.....  
Ernesto J. A. Späth, M.V. PhD.  
Asesor

.....  
Alejandro A. Abdala, M.V. M. Sc.  
Asesor

**IDENTIFICACION DE FACTORES DE RIESGO DE TUBERCULOSIS BOVINA  
EN RODEOS LECHEROS**

Carlos Javier Garro

Aprobada por:

.....  
Andres M. Perez M.V. PhD.  
Evaluador

.....  
Maria Cristina Jorge M.V. PhD.  
Evaluadora

.....  
Andres Gil M.V. PhD.  
Evaluador

**DEDICATORIA**

*A mi Familia*

## AGRADECIMIENTOS

A Fernando Paolicchi por el apoyo continuo que ofreció a este trabajo. A Ernesto Späth por todos sus conocimientos compartidos y la extensa bibliografía aportada. A Sergio Duffy y Emilio León por sus enseñanzas y el apoyo constante a mi formación profesional.

Un enorme agradecimiento a Alejandro Abdala, por todo el tiempo que invirtió en este trabajo, por haberme dado un lugar de trabajo en el INTA Rafaela y por todos los extensos viajes compartidos que hicimos en Santa Fe y Córdoba.

A mi amigo y compañero de trabajo, Sergio Garbaccio, quien me abrió una puerta en su laboratorio y me motivó con este estudio, por la ayuda que me brindó con los viajes, apoyando todo desde un principio.

A todos los veterinarios que participaron en este estudio en forma directa, recibíendome en sus regiones de trabajo como si fuese un amigo más. A todos ellos, mi agradecimiento eterno. Ellos son los veterinarios Pablo Acosta, Marcelo Arzú, Elvio Ballari, Jorge Bertero, José Bertoli, Leandro Crosetti, Miguel Durando, Marcos Fernandez Campón, Juan Feroglio, Luis Genier, Omar Giordano, Javier Gonzalez, Eduardo Lucca, Mario Marlatto, Daniel Miani, Ruben Morra, Jorge Novaira, Pascuale Palumbo, Leandro Perren, Oscar Perusia, Adalberto Racca, Romulo Ramirez, Alejandro Repetto, Eduardo Sanchez de Bustamante, Fernando Thos, Ramón Vicentini y Abel Zenklusen. Mi agradecimiento también a aquellas personas que me ayudaron con los viajes y a vincularme con los veterinarios, ellos son Hernán Piscitelli, Daniel Manelli, Alejandro Centeno, Luis Blainq, Daniel Mendoza, Martín Correa Luna y Ana Canal. Mi agradecimiento al profesor Luis Gutierrez por todas sus enseñanzas sobre producción lechera.

A mis queridos compañeros de oficina, Demian Ceballos, Pablo Barbera, Patricia Zimmer, Romanella Marcellino y Mercedes Pereira. A Francisco Murray, Miguel Andrade y German Berone por las salidas compartidas. A todos los chicos del postgrado que me han acompañado durante todo este tiempo.

A la Sra. Graciela Chiarinotti por su amigable compañía en el Casino del INTA Balcarce. A Marita Cocimano por su buen humor extremo en todas las mañanas del Chinchorro.

Al INTA que ha financiado y apoyado todo este trabajo de investigación.

A todos, muchísimas gracias.

## ÍNDICE

ÍNDICE DE TABLAS.....	IX
ÍNDICE DE FIGURAS.....	X
RESUMEN .....	XI
ABSTRACT .....	XIII
ABREVIATURAS.....	XV
1 INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Hipótesis general .....	2
1.2 Hipótesis específicas .....	2
1.3 Objetivo general.....	3
1.4 Objetivos específicos .....	3
2 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1 Tuberculosis bovina: Definición.....	4
2.2 Patogénesis .....	4
2.2.1 Tuberculosis primaria.....	4
2.2.2 Tuberculosis secundaria .....	5
2.3 Respuesta Inmune.....	6
2.4 Métodos de diagnóstico .....	6
2.4.1 Pruebas tuberculínicas.....	6
2.4.1.1 Prueba ano caudal.....	7
2.4.1.2 Prueba cervical comparada .....	8
2.4.1.3 Sensibilidad y especificidad .....	8
2.4.2 Otros métodos diagnósticos.....	9
2.5 Epidemiología de la TBB.....	10
2.5.1 Fuentes de infección .....	10
2.5.2 Modos de transmisión .....	11
2.5.3 Transmisión directa.....	11
2.5.3.1 Transmisión por secreciones respiratorias.....	11
2.5.4 Transmisión indirecta .....	12
2.5.4.1 Transmisión por calostro y leche.....	12
2.5.4.2 Transmisión por pasturas contaminadas.....	14
2.5.4.3 Transmisión congénita.....	15
2.5.4.4 Transmisión por agua contaminada .....	15

2.5.4.5	Transmisión por animales de vida silvestre.....	16
2.5.4.6	Otras vías de transmisión .....	17
2.6	Importancia zoonótica .....	18
2.7	Situación de la TBB en América Latina .....	19
2.8	Situación de la TBB en Argentina.....	20
2.8.1.1	Antecedentes de TBB en Argentina .....	20
2.8.1.2	Situación reciente de la TBB en Argentina.....	21
2.8.1.3	Situación de la TBB detectada en faena .....	22
2.9	Los sistemas lecheros en Argentina.....	23
2.10	Estudios de Casos y Controles.....	24
2.10.1	Antecedentes de estudios de CC en TBB.....	25
3	MATERIALES Y MÉTODOS .....	29
3.1	Diseño del estudio.....	29
3.2	Criterios de inclusión.....	29
3.3	Área de estudio.....	30
3.4	Determinación del tamaño de muestra.....	30
3.5	Definición de caso.....	31
3.6	Definición de control.....	31
3.7	Recolección de los datos .....	31
3.8	Datos recolectados .....	32
3.8.1	Variables descriptivas .....	32
3.8.2	Registros del estado sanitario .....	33
3.8.3	Factores de riesgo potenciales .....	33
3.8.3.1	Factores de la tasa de contacto .....	33
3.8.3.2	Factores de la alimentación de las terneras .....	34
3.8.3.3	Factores del ingreso de bovinos .....	34
3.9	Datos espaciales.....	35
3.10	Análisis de los datos.....	35
4	RESULTADOS.....	37
4.1	Área de estudio.....	37
4.2	Descripción de los rodeos lecheros.....	37
4.3	Registro sanitario de los establecimientos .....	40
4.4	Análisis bivariado .....	41
4.4.1	Factores de la tasa de contacto .....	41
4.4.1.1	Descripción .....	41

4.4.1.2	Análisis .....	43
4.4.2	Factores de la alimentación de las terneras .....	44
4.4.2.1	Descripción .....	44
4.4.2.2	Análisis .....	44
4.4.3	Factores del ingreso de bovinos.....	45
4.4.3.1	Descripción .....	45
4.4.3.2	Análisis .....	48
4.5	Análisis espacial .....	49
4.6	Análisis múltiple .....	50
4.6.1	Evaluación de interacción y confusión .....	50
4.6.2	Modelo de regresión logística múltiple .....	51
4.6.3	Modelo de regresión logística múltiple ajustado .....	52
4.6.3.1	Ajuste por la superficie de recría.....	52
4.6.3.2	Ajuste por el agrupamiento espacial .....	52
5	DISCUSIÓN .....	54
5.1	Descripción de los establecimientos.....	54
5.2	Situación sanitaria de los rodeos casos y controles .....	55
5.3	Días al desmadre .....	55
5.4	Establecimientos mixtos.....	56
5.5	Número de rodeos en ordeño por establecimiento .....	56
5.6	Carga animal.....	57
5.7	Leche cruda .....	57
5.8	Bancos de calostro.....	58
5.9	Pasteurización .....	59
5.10	Sustituto lácteo .....	59
5.11	Ingreso de vaquillonas.....	59
5.12	Ingreso de vacas .....	61
5.13	Ingreso de toros.....	61
5.14	Análisis múltiple de los factores.....	62
5.15	Consideraciones generales .....	63
6	CONCLUSIONES .....	65
7	BIBLIOGRAFÍA .....	67
8	APÉNDICE .....	77

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Especies de vida silvestre en las cuales se ha detectado tuberculosis producida por <i>M. bovis</i> .....	17
Tabla 2: Características de los 31 establecimientos Casos y 31 establecimientos Controles incluidos en el estudio. ....	38
Tabla 3: Factores de la tasa de contacto con su punto de corte, distribución en la tabla de contingencia, OR e intervalo de confianza y el p-valor del test de independencia chi-cuadrado. ....	43
Tabla 4: Factores de la alimentación de las terneras con su distribución en la tabla de contingencia, OR e intervalo de confianza y el p-valor del test de independencia chi-cuadrado. ....	45
Tabla 5: Número de establecimientos que ingresan bovinos y realizan la PAC al momento de ingresar los animales.....	48
Tabla 6: Factores del ingreso de bovinos con su punto de corte, distribución en la tabla de contingencia, OR e intervalo de confianza y el p-valor del test de independencia chi-cuadrado. ....	48
Tabla 7: Potenciales factores de confusión, OR y su intervalo de confianza ajustado y el p-valor al test de Mantel-Haenzel para las tres variables seleccionadas en el análisis bivariado. ....	50
Tabla 8: Modelo de regresión logística múltiple. ....	51
Tabla 9: Modelo de regresión logística múltiple ajustado por el factor superficie de recría. ....	52
Tabla 10: Modelo de regresión logística múltiple ajustado por el factor agrupamiento espacial.....	53

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Número de rodeos libres de tuberculosis bovina en Argentina (Adaptado de Torres, 2007).....	22
Figura 2: Cuencas lecheras de Argentina: 1.Mar y Sierras 2.Oeste de Buenos Aires 3.Abasto Sur 4.Abasto Norte 5.Cuenca “B” 6.Cuenca “A” 7.Sur de Santa Fe 8.Central 9.Sur de Córdoba 10.Villa María 11.Noreste de Córdoba 12.La Pampa 13.Cuenca Las Trancas (Fuente: SAGPyA, 1996).....	23
Figura 3: Establecimientos y departamentos de las provincias de Córdoba y Santa Fe donde se realizó el trabajo.....	37
Figura 4: Producción de leche por vaca en ordeño en 31 establecimientos casos y 31 establecimientos controles.....	39
Figura 5: Número de vacas totales (vacas en ordeño y vacas secas) en 31 establecimientos casos y 31 establecimientos controles.....	39
Figura 6: Cantidad de bovinos tuberculizados en el año 2007 en establecimientos casos y controles y prevalencia a la PAC.....	40
Figura 7: Días al desmadre en 31 establecimientos casos y 31 establecimientos controles. La línea vertical representa el valor de la mediana.....	41
Figura 8: Tipo de establecimiento en 31 establecimientos casos y 31 establecimientos controles.....	42
Figura 9: Número de rodeos de vacas en ordeño por establecimiento en 31 establecimientos casos y 31 establecimientos controles.....	42
Figura 10: Carga animal en 31 establecimientos casos y 31 establecimientos controles.....	43
Figura 11: Proporción de rodeos que alimentaron a sus terneras con leche cruda en 31 establecimientos casos y 31 establecimientos controles.....	44
Figura 12: Ingreso de vacas en 31 establecimientos casos y 31 establecimientos controles.....	46
Figura 13: Ingreso de toros en 31 establecimientos casos y 31 establecimientos controles.....	46
Figura 14: Ingreso de vaquillonas en 31 establecimientos casos y 31 establecimientos controles.....	47
Figura 15: Agrupamiento primario y secundario de establecimientos casos detectados en el área de estudio.....	49

## RESUMEN

La tuberculosis bovina (TBB), producida por el *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*), es una enfermedad zoonótica endémica en los rodeos bovinos de la Argentina. La información sobre la asociación entre el manejo y la ocurrencia de la enfermedad en rodeos lecheros es escasa en el país. Con el objetivo de evaluar el rol de determinadas prácticas de manejo en la ocurrencia de TBB en rodeos lecheros se realizó un estudio de casos y controles que incluyó 31 rodeos casos y 31 rodeos controles pertenecientes a 8 departamentos de las provincias de Córdoba y Santa Fe. Los rodeos controles fueron negativos a la prueba tuberculínica ano caudal durante todo el período en estudio y los rodeos casos se definieron como aquellos que presentaron más de 4 reactores positivos al mismo test en el último año en estudio. El período en estudio para evaluar los potenciales factores de riesgo estuvo comprendido entre enero de 2005 y diciembre de 2007. Los datos fueron recolectados a través de un cuestionario estándar, cuyas preguntas estuvieron dirigidas a caracterizar los factores de la tasa de contacto, la alimentación de las terneras y el ingreso de bovinos al rodeo lechero. El análisis de los factores de riesgo potenciales se realizó por regresión logística. Los factores alimentación con leche cruda, utilización de bancos de calostro, número de rodeos por establecimiento, carga animal, tipo de establecimiento y el ingreso de vacas no estuvieron asociados ( $P > 0.05$ ) a la ocurrencia de TBB en los rodeos estudiados. Mientras que los factores, más de 4 días al desmadre (OR = 4.55;  $P = 0.0048$ ), el ingreso de más de 19 vaquillonas en tres años (OR = 3.31;  $P = 0.0223$ ) y el ingreso de más de dos toros en tres años (OR = 3.43;  $P = 0.0297$ ) fueron significativos en el análisis bivariado. El análisis de regresión logística múltiple enfatizó el rol de los factores más de 4 días al desmadre (OR = 4.59;  $P = 0.0082$ ) y la introducción de más de 19 vaquillonas en tres años (OR = 3.34;  $P = 0.0340$ ) como predictores de la ocurrencia de TBB en los rodeos lecheros. Al ajustar el modelo por la variable superficie de recría solo estuvo asociado al riesgo de TBB el factor más de 4 días al desmadre (OR = 5.6;  $P = 0.0053$ ). El ajuste del modelo por el agrupamiento espacial desafecto la asociación de los factores días al desmadre (OR = 0.93;  $P = 0.9406$ ) y la introducción de más de 19 vaquillonas en tres años (OR = 4.20;  $P = 0.0708$ ) con la TBB. La asociación encontrada entre más de 4 días al desmadre y la ocurrencia de TBB en los rodeos lecheros sugiere una transmisión directa del *M. bovis* de la madre a la ternera que puede ser por aerosoles contaminados y/o por

el calostro infectado. Mientras que, un mayor ingreso de vaquillonas puede estar relacionado a la introducción de la infección desde fuentes externas al rodeo lechero. Una mayor superficie destinada a la recría dentro del predio limitaría el ingreso de vaquillonas y en consecuencia, disminuiría el riesgo de introducción externa de la infección. Sin embargo, la cercanía espacial de los establecimientos casos podría confundir el efecto de los factores de riesgo identificados. La identificación de estos factores de riesgo permite evaluar la importancia relativa de los mismos en la ocurrencia de TBB en rodeos lecheros en la región estudiada y tomar medidas de control que permitan limitar su transmisión.

Palabras clave: Tuberculosis bovina, rodeos lecheros, estudio de casos y controles, factores de riesgo, regresión logística.

### ABSTRACT

Bovine Tuberculosis (BT) is a zoonotic disease caused by infection with the *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*) that is endemic in Argentina. Information on the relation between management practices and the risk for BT in dairy herds is scarce in the country. With the objective of evaluating the association between BT and potential risk factors for the disease, 62 dairy farms in 8 departments of the provinces of Cordoba and Santa Fe were assessed from January 2005 through december 2007. The study was implemented using a case-control study that included 31 cases farms herds and 31 control farms herds. Cases were defined as herds with more than 4 positive reactors to the tuberculin caudal fold test (CFT) during the last year of study and controls were those herds that were CFT-negative during the entire study period. Data were collected using a questionnaire that targeted factors related to contact rate, calf feeding practices and number and category of the animals introduced into the dairy farms. Data were analyzed using logistical regression framework. Results of the bivariate analysis suggested that feeding with raw milk, calostrum bank fed calves, number of herds in the dairy farms, stock density, type of farm and introduction of cows were not significantly associated (  $P > 0.05$ ) with risk for BT. Factors that were significantly associated with the disease were: weaning at more than 4 days of age (OR = 4.55;  $P = 0.0048$ ), introduction of more than 19 heifers for three years (OR = 3.31;  $P = 0.0223$ ) and incorporation of more than two bulls for three years (OR = 3.43;  $P = 0.0297$ ). Only weaning at more than 4 days of age (OR = 4.59;  $P = 0.0082$ ) and introduction of more than 19 heifers for three years (OR = 3.34;  $P = 0.0340$ ) were retained as predictors for BT risk in a multivariate logistic regression model. Adjustment of the model by rearing area resulted in that only weaning at more than 4 days of age was significantly associated (OR = 5.6;  $P = 0.0053$ ) with the risk. Adjustment of the model by clusters subtract the associate the weaning at more than 4 days of age (OR = 0,93;  $P = 0.9406$ ) and introduction of more than 19 heifers for three years (OR = 4,20;  $P = 0.0708$ ) with the BT. Results suggest a direct transmission of *M. bovis* from the dam to the calf that can be due to infected aerosols and/or calostrum feeding. Additionally, a larger number of heifers introduced into the farm may be associated with introduction of the infection from external sources. Therefore, a large area dedicated to rearing of heifer and calves may reduces the number of heifers introduced and, consequently, it would limit the risk of external introduction of the infection. however, the clusters of the cases be confounding the risk factor

associated with BT. Identification of risk factors allowed to quantify the relative importance of selected management practices in the risk for BT in dairy farms. This knowledge will contribute to implement control measures that are affective in limiting the transmission of the disease in the dairy herds of the study region.

Keywords: bovine tuberculosis, dairy herds, case-control study, risks factor, logistic regression.

**ABREVIATURAS**

ADN: Ácido desoxirribonucleico  
CC: Casos y Controles  
CV: Coeficiente de variación  
DE: Desvío estándar  
DPP: Derivado proteico purificado  
E: Especificidad  
ELISA: Enzimoinmunoanálisis  
HSR: Hipersensibilidad retardada  
 $\gamma$ -IFN: Gamma interferón.  
IMC: Inmunidad mediada por células  
MNT: Micobacterias no tuberculosas  
MV: Médico Veterinario  
OIE: Organización Mundial de Sanidad Animal  
OR: Odds Ratio  
PAC: Prueba ano-caudal  
RCP: Reacción en cadena de la polimerasa  
S: Sensibilidad  
TBB: Tuberculosis bovina  
UFC: Unidades formadoras de colonias  
VT: Vacas totales

# 1 INTRODUCCIÓN

La tuberculosis bovina (TBB) es una enfermedad infectocontagiosa zoonótica producida por el *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*) (Acha; Szyfres, 2003) que es endémica en Argentina (Kantor; Ritacco, 2006). Esta enfermedad afecta al ganado bovino y a un amplio rango de especies domésticas y silvestres (O`Reilly; Daborn, 1995). En los rodeos bovinos el animal infectado es el principal reservorio y fuente de infección y transmite el *M. bovis* principalmente por la vía respiratoria y en menor proporción, por vía digestiva (Radostits *et al.*, 2002).

El *M. bovis* afecta también al ser humano y forma parte del denominado “complejo *Mycobacterium tuberculosis*” junto con el *Mycobacterium tuberculosis* (principal causante de la tuberculosis humana), *M. africanum* y *M. microti* (Moda *et al.*, 1996; Acha; Szyfres, 2003). La enfermedad producida por el *M. bovis* en humanos es indistinguible clínica y radiológicamente de la producida por *M. tuberculosis* y se estima que su incidencia está subestimada (Moda *et al.*, 1996). Estudios recientes indican que hay más casos humanos de tuberculosis que en toda la historia de la humanidad y se calcula que cada minuto se produce una muerte por esta enfermedad (IUATLD, 2003).

En el país existe un plan de control y erradicación de la TBB (SAGPyA, 1999). desde el año 1993 y desde su implementación se han saneado 6782 establecimientos, declarándose oficialmente libres de la enfermedad (Torres, 2007). La estrategia para erradicar la enfermedad es la detección de los reactores positivos al test tuberculínico y la eliminación de estos animales; el costo relacionado con la compra de animales para el reemplazo de bovinos positivos eliminados del rodeo debe ser afrontado por el productor. En aquellos casos en que es inviable económicamente la eliminación del bovino positivo a la prueba tuberculínica, el productor podría implementar prácticas de manejo que permitan reducir el riesgo de transmisión del *M. bovis*.

Es conocido que existe variación en la incidencia y prevalencia de TBB entre regiones geográficas y entre establecimientos de una misma región. Estas variaciones entre rodeos y regiones puede ser consecuencia de los cambios en el sistema de manejo y la oportunidad de transmisión de la infección y desarrollo de enfermedad. Otras variaciones pueden estar relacionadas a factores ecológicos que

modifican el riesgo de transmisión entre huéspedes o el establecimiento de la infección una vez que la transmisión ha ocurrido (Morris *et al.*, 1994). Para proveer de información sobre el rol que distintas prácticas de manejo o características de los establecimientos tienen en la ocurrencia de TBB se han realizado estudios de casos y controles en distintos países (Pfeiffer; Morris, 1991; Griffin *et al.*, 1996; Marangon *et al.*, 1998; Denny; Wilesmith, 1999; Johnston *et al.*, 2005; Reilly; Couternay, 2007). La información aportada permitió en algunos casos realizar recomendaciones de manejo que ayuden al control de la enfermedad (Phillips *et al.*, 2000). El manejo de los rodeos bovinos así como la epidemiología de la TBB varía entre regiones geográficas y entre sistemas de producción, por lo que las recomendaciones realizadas en algunos países no siempre son aplicables en otros lugares. En Argentina, la información sobre la relación entre el manejo y la ocurrencia de la TBB en rodeos lecheros es escasa.

El objetivo de este trabajo fue identificar aquellas prácticas de manejo que pudieran estar asociadas a la ocurrencia de TBB en rodeos lecheros. Los resultados aportarán conocimientos para incrementar la información sobre los factores de riesgo asociados a la enfermedad que permitan establecer pautas de manejo que ayuden a reducir el riesgo de transmisión del *M. bovis* dentro y entre los establecimientos.

## **1.1 Hipótesis general**

El riesgo de tuberculosis bovina en rodeos lecheros está asociado a determinadas características de manejo del sistema de producción.

## **1.2 Hipótesis específicas**

- Los sistemas de producción lechera pastoriles con mayor tasa de contacto entre bovinos tienen un mayor riesgo de ocurrencia de tuberculosis bovina.
- Los rodeos lecheros que utilizan un sistema de alimentación de las terneras en base a calostro y leche sin pasteurizar tienen un mayor riesgo de ocurrencia de tuberculosis bovina.

- El ingreso de bovinos al rodeo lechero aumenta el riesgo de ocurrencia de tuberculosis bovina.

### **1.3 Objetivo general**

- Identificar factores asociados al riesgo de ocurrencia de tuberculosis bovina en rodeos lecheros de Córdoba y Santa Fe.

### **1.4 Objetivos específicos**

- Identificar y describir factores de riesgo de tuberculosis bovina en rodeos lecheros relacionados al manejo de los animales.
- Cuantificar la asociación entre los factores de riesgo y la tuberculosis bovina en rodeos lecheros con régimen pastoril de Córdoba y Santa Fe.

## 2 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Tuberculosis bovina: Definición

La tuberculosis bovina es una enfermedad infectocontagiosa causada por el *Mycobacterium bovis* que afecta principalmente al ganado vacuno. Todas las especies, incluidos los seres humanos son susceptibles al *M. bovis* a cualquier edad, aunque las vacas, las cabras y los cerdos son los más vulnerables, mientras que las ovejas y los caballos poseen una elevada resistencia natural (Radostits *et al.*, 2002).

La tuberculosis en el bovino es una compleja interacción entre el huésped y el *M. bovis*, resultando en una respuesta inmune, presentación clínica y patología que puede variar significativamente en distintos animales (Neill *et al.*, 2001). Y aunque comúnmente se define a la tuberculosis como una enfermedad crónica y debilitante a veces puede adoptar un curso agudo de progresión rápida (Fraser *et al.*, 1993).

El bovino también puede infectarse con el *Mycobacterium tuberculosis* y por especies del complejo *Mycobacterium avium* y, aunque no producen enfermedad progresiva en los animales afectados, éstos pueden presentar reacciones falso positivas a las pruebas tuberculínicas (Matthias, 1980; Radostits *et al.*, 2002). No existen evidencias de alguna diferencia cuantificable de la virulencia entre cepas de *M. bovis*, con la única excepción de la cepa artificial atenuada BCG (Morris *et al.*, 1994).

### 2.2 Patogénesis

La TBB es una enfermedad cíclica, que cumple su proceso evolutivo en distintos períodos, caracterizados por signos, lesiones y estados de hipersensibilidad propio para cada uno de ellos, donde la evolución está condicionada por factores ligados al huésped, al bacilo y al medio ambiente (Martínez Vivot, 2000).

#### 2.2.1 Tuberculosis primaria

El primer contacto del animal susceptible con el *M. bovis* origina una lesión inflamatoria inespecífica cuya localización dependerá de la puerta de entrada. El drenaje linfático desde este foco primario causa la formación de lesiones caseosas

en los ganglios linfáticos adyacentes, a este conjunto de lesiones se lo denomina complejo primario (Matthias, 1980; Fraser *et al.*, 1993; Radostits *et al.*, 2002).

En bovinos adultos el complejo primario se encuentra en el 90 % de los casos en los pulmones y se ubica con mayor frecuencia en los lóbulos diafragmáticos con localización subpleural. Los complejos primarios digestivos pueden ubicarse en cualquier parte del sistema digestivo aunque en terneros la puerta de entrada suele ser la válvula ileocecal. En la infección congénita los bacilos llegan al feto por las venas umbilicales por lo que el foco primario puede ubicarse en hígado y ganglios linfáticos portales (Rey Moreno, 2000).

El complejo primario puede evolucionar hacia la cura bacteriológica, la estabilización de la lesión o puede generalizarse debido a la diseminación bacilar por vía linfática o hemática a todo el organismo (Martinez Vivot, 2000). Cuando la lesión se localiza en forma de una masa granulomatosa similar a un tumor se la denomina tubérculo, la misma está rodeada de tejido conectivo denso y tiene tendencia a la mineralización. El crecimiento continuo de los microorganismos causa un aumento del tamaño del granuloma aunque el tejido conectivo que lo rodea puede detener el progreso (Fraser *et al.*, 1993).

Cuando los bacilos escapan de los focos primarios se transportan por vía sanguínea y linfática y se alojan en otros órganos y tejidos donde establecen otros tubérculos. La generalización de la enfermedad depende de diversos factores y puede manifestarse de dos maneras: a) Tuberculosis miliar aguda cuando la diseminación del bacilo se produce en forma simultánea en numerosos órganos produciendo lesiones uniformes de 2 a 3 mm de diámetro; b) Tuberculosis perlada cuando la diseminación linfohemática es de pocos bacilos y en episodios repetidos originando lesiones polimorfas en diversos órganos (Martinez Vivot, 2000).

### **2.2.2 Tuberculosis secundaria**

Es también denominada tuberculosis crónica de órgano, debido a que la diseminación del bacilo ocurre por difusión intracanalicular y no por vía linfohematógena. Se producen lesiones caseosas o reblandecidas con formación de úlceras, nódulos y cavernas sin compromiso de los ganglios linfáticos regionales y sin precipitación de sales de calcio (Rey Moreno, 2000).

## 2.3 Respuesta Inmune

Cuando un animal es infectado con el *M. bovis*, los linfocitos T responden a los antígenos micobacterianos produciendo una expansión clonal, y desarrollando una población de células de memoria (Pollock *et al.*, 2001). La inmunidad mediada por células (IMC) cumple un rol central en la respuesta inmunitaria a la TBB, y sólo en circunstancias particulares, adquiere importancia la respuesta de anticuerpos (Wood; Jones, 2001). La primera línea de defensa para el bacilo tuberculoso son los macrófagos que fagocitan la bacteria para destruirla aunque ésta, puede sobrevivir en forma intracelular.

La IMC y la respuesta de hipersensibilidad retardada (HSR) a la tuberculina son dos fenómenos paralelos donde ambos inhiben el crecimiento intracelular de los bacilos tuberculosos. En la IMC los monocitos se reclutan en el granuloma en respuesta a citocinas producidas por células T sensibilizadas y posteriormente adquieren la capacidad para destruir los organismos intracelulares. En la HSR se destruyen los macrófagos no activados cargados de bacilos para crear un ambiente no favorable al crecimiento bacteriano. Cuando el huésped tiene dificultad para eliminar las micobacterias, la HSR interrumpe el crecimiento logarítmico de las micobacterias con la acumulación de tejido de granulación y fibrosis de la lesión (Oriani, 2001)

## 2.4 Métodos de diagnóstico

El diagnóstico clínico reviste poca importancia debido a que animales infectados pueden aparentar normales y cuando presentan signos clínicos, éstos no son específicos de la TBB (Kantor, 2000). Los signos clínicos pueden ser tan variados como: emaciación progresiva, tos crónica, hipertrofia de los ganglios linfáticos retrofaríngeos, disfagia, infertilidad, mastitis entre otros (Radostits *et al.*, 2002).

### 2.4.1 Pruebas tuberculínicas

Las pruebas intradérmicas son el estándar internacional fijado por la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE, 2008) para el diagnóstico ante-mortem de la TBB en rodeos bovinos y en animales individuales. Estas pruebas están basadas en la respuesta de hipersensibilidad a la inyección intradérmica de tuberculina, una suspensión de proteínas extraídas de micobacterias cultivadas (De la Rúa-Domenech *et al.*, 2006).

Cuando el derivado proteico purificado (DPP) es inyectado por vía intradérmica en animales sensibilizados por una infección con el *M. bovis* se produce una respuesta de HSR. Luego de 12 a 24 horas de la inyección de DPP se produce una vasodilatación y aumento de la permeabilidad vascular. Esto genera eritema y tumefacción que produce la induración característica. La lesión se diferencia de una respuesta inflamatoria aguda clásica porque las poblaciones de células que la infiltran son mayoritariamente del tipo mononuclear (macrófagos y linfocitos) aunque en etapas tempranas de la reacción aparece una acumulación transitoria de neutrófilos. La reacción inflamatoria alcanza su máxima intensidad entre 24 y 72 horas después de la inyección pudiendo persistir por varias semanas para finalmente desaparecer gradualmente (Tizard, 1995).

#### **2.4.1.1 Prueba ano caudal**

Esta prueba se realiza en el tercio medio del pliegue ano caudal interno, a unos 6 cm de la base de la cola inyectando 0.1 mL de DPP bovino en forma intradérmica. Se realiza la lectura del test por medición o palpación en el sitio de inoculación a las 72 hs  $\pm$  6 hs pos-inyección. En la primera prueba, cuando se desconoce el estado sanitario del rodeo, se aplica el siguiente criterio de clasificación general (Resolución SENASA N° 115/99):

- a) Positivo: engrosamiento de la piel de 5 mm o más.
- b) Sospechoso: engrosamiento de 3 a 5 mm.
- c) Negativo: engrosamiento menor de 3 mm.

En rodeos con tuberculosis comprobada por pruebas tuberculínicas, lesiones en la necropsia o por la historia sanitaria, se debe repetir la PAC a todo animal mayor de 6 meses con un intervalo entre pruebas de 60 - 90 días. En este caso, se considerará positivo aquel animal que presente un engrosamiento de 3 mm o más. Los rodeos sospechosos pueden sacrificar los animales para buscar lesiones compatibles con tuberculosis o puede volver a repetir la PAC a todos los animales con reacción sospechosa a los 60 - 90 días. Si persiste el mismo tamaño de las reacciones puede considerarse nuevamente como sospechoso o infectado, según el criterio del veterinario. Se considera a un rodeo como oficialmente libre de TBB cuando se obtienen resultados negativos en dos pruebas consecutivas con un intervalo de 60 - 90 días con la supervisión del SENASA. Los certificados serán renovados anualmente, previa prueba tuberculínica negativa de todos los animales

del rodeo con más de 24 meses de edad y de los que hayan sido adquiridos durante el año previo.

En Estados Unidos, Canadá, Australia y Nueva Zelanda se utiliza la PAC aunque en Inglaterra y el resto de Europa la inyección de DPP se coloca en la piel del cuello. Se argumenta que la piel del pliegue cervical es más sensible mientras que la región caudal es más específica (Radostits *et al.*, 2000). En Argentina se utiliza la prueba ano caudal para identificar a los bovinos sensibilizados por el *M. bovis*.

#### **2.4.1.2 Prueba cervical comparada**

Esta prueba es utilizada ante la duda de reacciones inespecíficas a la prueba tuberculínica debidas a la tuberculosis aviar. Se inyecta en forma simultánea tuberculina aviar y bovina en dos lugares separados de la piel del cuello, uno encima de otro separado por 12 cm y se realiza la lectura a las 72 hs. Por diferencia en el espesor de la piel antes y después de las inoculaciones se determina la respuesta a cada DPP. La interpretación se basa en el tamaño de la respuesta a la tuberculina bovina comparada con la aviar. Es considerada una respuesta positiva al *M. bovis* si la diferencia de grosor entre la reacción a DPP bovino es mayor a 4 mm que la reacción al DPP aviar. Mientras que con una reacción mayor a 2 mm y menor a 4 mm se considera al animal como sospechoso.

#### **2.4.1.3 Sensibilidad y especificidad**

Los términos sensibilidad (S) y especificidad (E), hacen referencia respectivamente a la proporción de animales infectados y no infectados que son correctamente clasificados por el test diagnóstico (De la Rúa-Domenech *et al.*, 2006). Se ha estimado que los bovinos infectados responden a la PAC entre los 6 y 20 meses luego de haber ingresado el *M. bovis* (Barlow *et al.*, 1997). Este tiempo corresponde a la suma del periodo de latencia de la infección más el tiempo en el que la prueba, por su S puede detectar un animal infectado. En la práctica, estos estados varían entre bovinos dependiendo entre otras cosas, de la ruta de infección y la dosis infectiva.

Muchos factores pueden producir reacciones falso positivas y falso negativas a la PAC en el bovino (Radostits *et al.*, 2002) y los proporciones estimadas de S y E varían entre las publicaciones consultadas. En una revisión publicada por De la Rúa-Domenech *et al.* (2006) los valores de S a la PAC variaron entre el 63 y el 84 % mientras que la E se encontró entre el 96 y el 99 %.

## 2.4.2 Otros métodos diagnósticos

La prueba del  $\gamma$ -interferón ( $\gamma$ -IFN) se basa en la detección de esta citoquina en plasma luego de su liberación por linfocitos sensibilizados con antígenos del *M. bovis*. Fue desarrollada en Australia para el diagnóstico de la TBB en combinación con la PAC y en 1991 acreditada como test diagnóstico oficial en este país (Wood; Jones, 2001). La técnica consiste en extraer sangre heparinizada que luego es separada en pequeñas alícuotas. Las muestras se incuban a 37 °C en presencia del antígeno DPP (aviar y bovino) más un control negativo. Después de 16 a 24 hs de incubación, se cuantifica por enzimoimmunoanálisis (ELISA) el  $\gamma$ -IFN en plasma. La prueba del  $\gamma$ -IFN fue formalmente reconocida por la Unión Europea como test paralelo que permite detectar el máximo número de bovinos infectados en el rodeo (De la Rúa-Domenech *et al.*, 2006; Collins, 2006) y es considerada por la OIE una prueba alternativa para el diagnóstico de la TBB.

La prueba de ELISA se basa en la detección de anticuerpos específicos anti-*Mycobacterium* (inmunoglobulinas del tipo G) circulantes en sangre. Y aunque esta prueba proporciona información epidemiológica del rodeo frente a la infección tuberculosa, no es eficaz para identificar a todos los animales infectados (Kantor, 2000). En la TBB los anticuerpos tienden a aparecer después que la inmunidad celular por lo que la prueba de ELISA puede no detectar estados tempranos de infección. Puede ser indicada como complemento a la PAC para identificar aquellos animales en estados avanzados de enfermedad que son anérgicos y pueden estar diseminando la enfermedad en el rodeo (Lilenbaum *et al.*, 1999).

La reacción en cadena de la polimerasa (RCP) es una rápida prueba tamiz que identifica el ADN (ácido desoxirribonucleico) del *M. bovis* en muestras clínicas de animales. También puede ser utilizada para monitorear la presencia de la bacteria en el ambiente. Sin embargo, la técnica tiene serias limitaciones debido probablemente al bajo número de bacilos en las muestras, diseminación intermitente, ineficiente extracción del ADN de la bacteria o la presencia de inhibidores de la RCP en la muestra (De la Rúa-Domenech *et al.*, 2006).

Otros estudios con un potencial diagnóstico en TBB incluyen la producción de antígenos recombinantes que estimulen la respuesta en células T a través de la proliferación linfocitaria y el  $\gamma$ -IFN. Otras técnicas basadas en el análisis del ADN permiten caracterizar los aislamientos de *M. bovis* y de esa manera poder investigar

las posibles fuentes de infección, como son las técnicas de análisis de fragmentos de restricción y la hibridación en Southern blot (Collins *et al.*, 1994).

## 2.5 Epidemiología de la TBB

### 2.5.1 Fuentes de infección

El principal reservorio y fuente de contagio del *M. bovis* es el bovino infectado pudiendo transmitir la infección a muchas especies de mamíferos, incluido al hombre (Radostits *et al.*, 2000; Acha; Szyfres, 2003).

En bovinos la vía de salida más importante del *M. bovis* es la respiratoria. También puede excretarse por materia fecal lo cual puede deberse a la deglución de moco pulmonar contaminado con el *M. bovis* o la excreción por lesiones intestinales (Matthias, 1980). Otras vías de salida son la leche, el esperma, la orina y las excreciones uterinas. También puede haber excreción cutánea por fístulas de ganglios linfáticos afectados.

Morris *et al.* (1994) menciona que en infecciones naturales y experimentales entre el 80 y el 90 % de los bovinos adquiere el *M. bovis* por inhalación. Incluso en terneros esta es usualmente la vía más importante de ingreso del *M. bovis* aunque ocasionalmente todo un grupo de animales puede infectarse por el consumo de leche tuberculosa.

El rango de latencia, considerado como el tiempo que tarda un bovino en desencadenar una respuesta inmune contra el *M. bovis*, es reportado entre 87 y 226 días (Neill citado por Barlow *et al.*, 1997). Estudios realizados en tambos de la provincia de Santa Fe estimaron un período de latencia medio de 24 meses. El mismo estudio determinó, a través de un modelo de simulación, que cada bovino infectado transmite la infección a 2.2 bovinos susceptibles en el período de un año (Perez *et al.*, 2002a). En Nueva Zelanda el coeficiente de transmisión fue estimado en 2.6 bovinos infectados por año por cada bovino infeccioso (Barlow *et al.*, 1997). Estos valores son consistentes con la dinámica de una enfermedad crónica. La facilidad con la que un bovino infectado, transmite el *M. bovis* a otros animales susceptibles, cambia con el tiempo (Goodchild; Clifton-Hadley, 2001).

## 2.5.2 Modos de transmisión

La transmisión de la infección de un animal infectado a otro animal susceptible puede ser a través del contacto estrecho entre animales o por la contaminación de vehículos con secreciones y excreciones infecciosas (Schwabe *et al.*, 1977). A los fines de esta revisión, se denominará transmisión directa entre animales a la que ocurre por medio de aerosoles de la tos o la respiración que son depositados directamente en las mucosas respiratorias de otro animal. Mientras que, la transmisión indirecta serán todas aquellas vías que necesiten de algún otro vehículo de transmisión.

La transmisión del *M. bovis* entre bovinos es dependiente de muchos factores, como ser la frecuencia de excreción, la ruta de infección, la dosis infectiva, el tiempo de contacto y la susceptibilidad del huésped (O`Reilly; Daborn, 1995). Phillips *et al.* (2003) menciona que la mejor evidencia de las rutas de transmisión del *M. bovis* en bovinos son los patrones de lesiones observadas en los bovinos sacrificados.

## 2.5.3 Transmisión directa

### 2.5.3.1 Transmisión por secreciones respiratorias

En aproximadamente el 90 % de animales afectados por TBB, la lesión primaria involucra los linfonodos del sistema respiratorio, lo que hace sugerir que ésta es la principal vía de transmisión (Matthias, 1980; O`Reilly; Daborn, 1995, Moda *et al.*, 1996; Menzies; Neill, 2000; Kistermann; Torres, 2000; Phillips *et al.*, 2003). Las secreciones del aparato respiratorio pueden entrar en contacto con otro animal por medio de aerosoles en suspensión. La transmisión respiratoria por inhalación de aerosoles contaminados es la forma más eficiente de transmisión de la TBB (Kaneene; Pfeiffer, 2006). El mugir de un bovino infectado puede liberar aerosoles con 100 a 200 bacilos que se pueden evaporar en el ambiente y permanecer en suspensión en el aire, pudiendo ingresar al sistema respiratorio de otro animal (Kistermann; Torres, 2000).

Dean *et al.* (2005) demostró en un trabajo experimental con bovinos que, con 1 unidad formadora de colonia (UFC) que contiene entre 6 y 10 *M. bovis* viables, puede causar TBB por vía aerógena y producir una patología cuya severidad es equivalente a la de animales infectados con dosis mayores a 1000 UFC por la misma vía de inoculación. Chambers *et al.* (2001) expuso cobayos a los aerosoles

de una suspensión conteniendo *M. bovis* con partículas de un diámetro medio de 2 micrómetros ( $\mu\text{m}$ ). A las 5 semanas todos los cobayos presentaron lesiones de tuberculosis en pulmón, hígado y bazo, confirmando la importancia de esta vía de transmisión. O`Reilly y Daborn (1995) mencionan que los aerosoles y partículas de polvo de hasta 10  $\mu\text{m}$  de diámetro contaminadas con *M. bovis* pueden alcanzar el pulmón con relativa facilidad, penetrando hasta las porciones más distales. Pero cuando superan este diámetro pueden posarse en las membranas mucosas del tracto respiratorio superior estableciendo una infección y posterior diseminación a los linfonodos cervicales y/o retrofaríngeos.

La alta tasa de contacto entre bovinos y la elevada humedad proveen un ambiente ideal para la transmisión del *M. bovis*, cuando se compara con los ambientes en los cuales los bovinos son mantenidos en pasturas. En situaciones donde el bovino infectado es removido y la prevalencia de la enfermedad disminuye, la vía de transmisión más probable es por vía respiratoria. La prevalencia de TBB en animales de cría es menor que en tambos, debido a que pastorean libremente disminuyendo el contacto entre ellos. Los bovinos de engorde que están permanentemente en la pastura son raramente infectados aunque puede deberse al largo periodo de incubación en comparación con la corta vida de estos animales (Phillips *et al.*, 2003).

El contacto o proximidad entre animales afecta la tasa con que un animal transmite el *M. bovis* a otros animales susceptibles (Goodchild; Clifton-Hadley, 2001). El incremento en el tamaño del rodeo incrementa el número de interacciones y la tasa a la que los animales son infectados es directamente proporcional al número de animales susceptibles en el rodeo.

## **2.5.4 Transmisión indirecta**

### **2.5.4.1 Transmisión por calostro y leche**

Se han encontrado evidencias que sugieren que el calostro puede cumplir un rol en la transmisión de la enfermedad. Serrano-Moreno *et al.* (2008) demostró que el 62 % de las muestras de calostro provenientes de un rodeo con alta prevalencia (48 %) de TBB fueron positivas a la técnica de RCP, que identifica el ADN del *M. bovis*. La glándula mamaria es más susceptible a las infecciones intramamarias durante el parto y esto puede deberse a una disminución en la actividad fagocitaria y bactericida de los macrófagos durante dicho período (Tizard, 1995). La disminución

en la respuesta inmune celular a nivel local está correlacionada con bajos niveles de interleucina 2 en la glándula mamaria (Sordillo, 2005).

La infección de los terneros también es posible por la ingestión de leche tuberculosa debido a que un bovino infectado pueden excretar hasta  $10^3$  UFC por mL de leche (Zanini en Phillips *et al.*, 2003). En la TBB con afección de la glándula mamaria por infiltración lobular del *M. bovis*, la leche puede aparecer inalterada en su aspecto externo (Matthias, 1980). En aquellos rodeos lecheros donde se mezcla y comparte el calostro y la leche de distintas vacas para alimentar a los terneros, es mayor la exposición al riesgo de infección (Phillips *et al.*, 2003).

Auque la infección mamaria aparece de manera tardía en la evolución de la TBB, la transmisión del *M. bovis* por el consumo de leche es importante en lugares endémicos (Radostits *et al.*, 2002). En ausencia de medidas de control efectivas, el 1 al 2 % de las vacas tuberculosas tienen diseminación hematogena y la infección alimentaria de los terneros sería secundaria a estos casos de tuberculosis (Morris *et al.*, 1994; O'Reilly; Daborn, 1995). Sin embargo, Matthias (1980) afirma que hasta el 4 % de todos los bovinos positivos a la tuberculina excreta el *M. bovis* por leche. La infecciones intramamarias puede ocurrir por diseminación hematogena (Holmes *et al.*, 1984) aunque el 99 % son producidas por la penetración de bacterias a través del canal del pezón (Taverna, 2007) siendo ésta una vía de entrada poco probable para el ingreso del *M. bovis* (Radostits *et al.*, 2002).

Rentería *et al.* (1996) demostró que el riesgo de exposición a *Mycobacterium spp.* estuvo asociado al manejo del calostro y leche en terneros Holstein. Un mayor riesgo de exposición a *Mycobacterium spp.* ocurrió en terneros que consumieron una mezcla de calostro de vacas con historial desconocido a la PAC y leche cruda, versus terneros que consumieron calostro de vacas negativas a la PAC y sustituto lácteo. Además concluyó que el uso de sustituto lácteo no elimina completamente el riesgo de infección tuberculosa en los terneros. La transmisión puede todavía tener lugar por medio de la ingestión de calostro contaminado proveniente de vacas falso negativas a la PAC, como así también de vacas infectadas post-parto o incluso por infección *in-útero*.

Pardo *et al.* (2001) demostró que en vacas clínicamente normales que fueron positivas o sospechosas a la prueba de Stormont, el 36.5 % eliminaba *Mycobacterium spp.* a través de la leche. Fujimura Leite *et al.* (2003) examinó 128 muestras de leche comercial en busca de *M. bovis* y otras especies de micobacterias y encontró que un 18 % de ellas fueron positivas al cultivo

bacteriano. De leche cruda se identificó un aislamiento de *M. bovis* y 13 micobacterias no tuberculosas (MNT) mientras que en leche pasteurizada se obtuvo 9 aislamientos de MNT y ningún aislamiento en leche tratada con ultra alta temperatura. El estudio dejó en claro que existe una gran diversidad de especies de MNT que pueden aislarse de la leche cruda y pasteurizada y que el *M. bovis* puede estar presente en leche cruda.

Serrano-Moreno *et al.* (2008) demostró la presencia del ADN de *M. bovis* en muestras de leche a través de la técnica de RCP en un rodeo con TBB endémica. Los resultados demostraron que el 28 % y el 9 % de las muestras de leche de animales positivos y negativos a la PAC respectivamente, fueron positivas a la RCP. El *M. bovis* puede permanecer vivo durante 15 días en leche (Matthias, 1980) aunque puede eliminarse con la pasteurización de la misma. Estudios realizados para obtener la curva de muerte térmica del *M. bovis* demostraron que este microorganismo no sobrevive en leche sometida a una temperatura de 63.5 ° C por 30 minutos (Grant *et al.*, 1996). La pasteurización de la leche es una combinación de tiempo y temperatura que fueron establecidos como necesarios para la destrucción del *M. tuberculosis*. Los estándares de pasteurización pueden ser: baja temperatura, largo tiempo (63.5 ° C por 30 minutos) o alta temperatura, corto tiempo (71.7 ° C por 15 segundos).

#### **2.5.4.2 Transmisión por pasturas contaminadas**

El *M. bovis* es un patógeno obligado pero puede sobrevivir por períodos substanciales de tiempo en el ambiente bajo condiciones favorables (Morris *et al.*, 1994). El bovino puede adquirir la infección por *M. bovis* en pasturas previamente pastoreadas por bovinos infectivos y contaminadas con su materia fecal (Phillips *et al.*, 2003). El *M. bovis* puede permanecer vivo hasta por 13 días en la materia fecal depositada en los pastos (Matthias, 1980) aunque otros estudios han determinado que es muy resistente y puede sobrevivir en materia fecal hasta por dos meses en verano, 4 meses en otoño y 5 meses en invierno (O'Reilly; Daborn, 1995). Una adecuada disponibilidad de nutrientes orgánicos es el factor más importante que influye sobre la viabilidad de las bacterias patógenas en el ambiente (Wray citado por Morris *et al.*, 1994). La luz solar afecta la supervivencia del *M. bovis* en forma indirecta causando desecación. Otros factores que pueden afectar la supervivencia del microorganismo en la pastura y el suelo son la temperatura, humedad, pH, oxígeno disuelto y la presencia de antibióticos naturales del suelo, la microflora

natural y los tipos de asociaciones de microflora (Kelly and Collins en Morris, 1994). El *M. bovis* depositado en materia fecal sobre suelo estéril y resguardado de la luz solar puede sobrevivir por varios meses, pero bajo condiciones naturales parece morir rápidamente (O`Reilly; Daborn, 1995).

En bovinos infectados, la proporción de animales que eliminan *M. bovis* en materia fecal es generalmente del 10 %, pero puede ser tan alta como el 80 % (Reuss en Phillips *et al.*, 2003). La baja frecuencia y la irregular eliminación del *M. bovis* en materia fecal sugieren que la excreción por esta vía tiene poca importancia como vía de transmisión en relación a la diseminación respiratoria directa. La contaminación de las pasturas con el *M. bovis* también puede ocurrir por la diseminación de materia fecal contaminada en los campos. La utilización de dispersores de materia fecal crea aerosoles que pueden infectar a otros bovinos o a la fauna silvestre que puede actuar como reservorio de la infección (Phillips *et al.*, 2003).

#### **2.5.4.3 Transmisión congénita**

Se ha estimado que aproximadamente el 1 % de los terneros que nacen de vacas tuberculosas están congénitamente infectados con *M. bovis* (O`Reilly; Daborn, 1995; Phillips *et al.*, 2003). La transmisión congénita se produce cuando los bacilos tuberculosos ingresan al ternero a través de la vena umbilical y llegan a los ganglios linfáticos periportales y al hígado, donde provocan lesiones primarias (Matthias, 1980).

Rentería y Hernández (1996) demostraron que los terneros nacidos de vacas positivas a la PAC tenían un mayor riesgo (33% versus 11 %) de ser reactores positivos a la prueba tuberculínica con respecto a los terneros nacidos de vacas negativas a la misma prueba.

#### **2.5.4.4 Transmisión por agua contaminada**

Las MNT están en el ambiente y la mayoría de estas especies pueden encontrarse en el agua. Sin embargo, las micobacterias tuberculosas (*M. tuberculosis*, *M. bovis* y *M. africanum*) son aisladas en forma excepcional de la naturaleza (Dailloux *et al.*, 1999). La contaminación del agua por micobacterias depende de factores químicos y térmicos. En general, puede estimarse que la contaminación promedio del agua fresca varía entre 0.1 y 500 UFC/mL y muchas especies de micobacterias pueden aislarse de la misma muestra.

Los bovinos productores de leche pueden consumir entre 15 y 90 litros de agua por día dependiendo de varios factores fisiológicos y ambientales (Holmes *et al.*, 1984). Cuando el bovino toma agua provoca salpicaduras que pueden proveer un medio de entrada para el bacilo en el tracto respiratorio. El agua puede estar contaminada con *M. bovis* por el esputo de bovinos o por animales silvestres infectados (Phillips *et al.*, 2000). En África se demostró que los rodeos bovinos que tomaban agua de fuentes estancadas tenían un mayor riesgo de presentar TBB (Oloya *et al.*, 2007).

#### **2.5.4.5 Transmisión por animales de vida silvestre**

La infección por *M. bovis* es la causa más comúnmente observada de tuberculosis en los animales silvestres. El riesgo de transmisión del *M. bovis* a una población de bovinos en riesgo va a depender de la abundancia y conducta de la especie silvestre huésped. Asimismo, esta interacción puede alterarse por influencias ambientales como pueden ser los cambios climáticos o los cambios en las prácticas agropecuarias (Delahay *et al.*, 2001). Los animales silvestres también pueden infectarse por el *M. tuberculosis* a través de la presencia de humanos infectados en zoológicos o en áreas dedicadas al ecoturismo (Amanfu, 2006). Algunas especies silvestres en las cuales se ha detectado el *M. bovis* figuran en la Tabla 1.

En Nueva Zelanda una especie de comadreja llamada *possum* (*Trichosurus velpecula*) actúa como un reservorio de la infección del *M. bovis*. La infección puede transmitirse del *possum* a sus congéneres por diseminación horizontal y se considera que el ganado doméstico se infecta al acercarse por curiosidad al *possum* enfermo (Coleman; Cooke, 2001). El *M. bovis* persiste en animales infectados después de la muerte y puede proveer de una fuente de infección para animales carroñeros y para el ganado doméstico que pastorea en el sitio de descomposición (Morris, 1994).

En Gran Bretaña la infección del tejón (*Meles meles*) por el *M. bovis* hace que este animal silvestre sea un reservorio potencial de la infección (Delahay *et al.*, 2001). El tejón excreta el *M. bovis* en el aire exhalado, esputo, orina, materia fecal y pus.

**Tabla 1: Especies de vida silvestre en las cuales se ha detectado tuberculosis producida por *M. bovis***

- Papión de Guinea ( <i>Papio papio</i> ) <sup>a</sup>	- Camello Asiático ( <i>Camelus bactrianus</i> ) <sup>a</sup>
- Babuino chacma ( <i>Papio ursinus</i> ) <sup>b</sup>	- Hurón ( <i>Mustela putorius furo</i> ) <sup>a</sup>
- Ciervo mulo ( <i>Odocoileus hemionus</i> ) <sup>a</sup>	- Conejo ( <i>Oryctolagus cuniculus cuniculus</i> ) <sup>a</sup>
- Alce ( <i>Cervus elaphus nelsoni</i> ) <sup>a</sup>	- Bisonte ( <i>Bison bison athabascae</i> ) <sup>a</sup>
- Bisonte americano ( <i>Bison bison</i> ) <sup>a</sup>	- Gamo común ( <i>Dama dama</i> ) <sup>a</sup>
- Búfalo cafre ( <i>Syncerus caffer</i> ) <sup>a</sup>	- Antílope africano ( <i>Kobus lechwe</i> ) <sup>a</sup>
- Kudú ( <i>Tragelaphus strepsiceros</i> ) <sup>a</sup>	- Duiker común ( <i>Sylvicapra grimmia</i> ) <sup>a</sup>
-Guepardo ( <i>Acynonyx jubatus</i> ) <sup>b</sup>	- Eland ( <i>Trourotragus oryx</i> ) <sup>b</sup>
-León ( <i>Panthera leo</i> ) <sup>b</sup>	- Cerdo verrucoso ( <i>Sylvicapra aethsopicus</i> ) <sup>b</sup>
-Babuino ( <i>Papio cynocephalus anubis</i> ) <sup>a</sup>	- Venado de cola blanca-( <i>Odocoileus virginianus</i> ) <sup>a</sup>
- Wapitíes ( <i>Cervus elaphus var canadensis</i> ) <sup>a</sup>	- Liebre europea ( <i>Lepus europaeus occidentalis</i> ) <sup>a</sup>

<sup>a</sup> O`Reilly y Daborn, 1995; <sup>b</sup>OIE, 2008.

En Latinoamérica es probable que la alta tasa de infección en el ganado doméstico no permita aún determinar la importancia de los focos de TBB asociados a la transmisión desde la fauna silvestre. Esta situación constituye un vacío en la investigación epidemiológica que deberá abordarse conforme progresen los esfuerzos por controlar la enfermedad (Abalos; Retamal, 2004). En Argentina se ha aislado *M. bovis* de liebres (*Lepus leporis*) en Azul, provincia de Buenos Aires (Kantor *et al.*, 1995). Otros trabajos han aislado el *M. bovis* de animales silvestres en tres rodeos lecheros con TBB pertenecientes a las provincias de Córdoba y Santa Fe. Los aislamientos se realizaron en tres especies distintas de mamíferos, una rata (*Rattus norvegicus*), un zorro (*Lycolapex gimnocercus*) y una comadreja overa (*Didelphys albiventris*), aunque se desconoce la importancia epidemiológica de estos aislamientos en la transmisión de la TBB (Abdala *et al.*, 2006).

#### **2.5.4.6 Otras vías de transmisión**

El *M. bovis* puede llegar al suelo a través de las secreciones nasales, saliva, materia fecal u orina de animales infectados. El bovino puede consumir tierra

contaminada con el *M. bovis* cuando las pasturas son bajas o cuando existen deficiencias minerales (Phillips *et al.*, 2003). Se ha encontrado un efecto protector de la ocurrencia de TBB, con la diseminación de fertilizantes artificiales o del estiércol de los corrales en las tierras de pastoreo de los bovinos (Johnston *et al.*, 2005).

El *M. bovis* se ha encontrado en garrapatas tomadas de la piel de hospedadores infectados, y estudios en Armenia confirmaron que la garrapata puede llevar micobacterias viables por muchos meses. El *M. bovis* podría transmitirse a través de la inoculación de la garrapata durante la alimentación o a través de la marca que deja al alimentarse (Blagodarny citado por Phillips *et al.*, 2003).

## 2.6 Importancia zoonótica

El *M. bovis* es una de las cuatro especies de micobacterias perteneciente al “complejo *M. tuberculosis*” que afectan al humano, junto con el *M. tuberculosis*, *M. africanum* y *M. microti* (Moda *et al.*, 1996; Amanfu, 2006). La tuberculosis humana es una de las enfermedades infecciosas más ampliamente diseminada y es la mayor causa de muerte en adultos debida a un solo agente infeccioso en el mundo. La causa más frecuente de tuberculosis en humanos es el *Mycobacterium tuberculosis*, pero una proporción desconocida de casos son debidos al *M. bovis* (Cosivi *et al.*, 1998).

La tuberculosis humana causada por *M. bovis* es indistinguible en cuanto a sus signos clínicos, patogénesis y lesiones patológicas de la tuberculosis causada por *M. tuberculosis* (Moda *et al.*, 1996; Cosivi *et al.*, 1998; Acha; Szyfres, 2003). Históricamente, las afecciones por *M. bovis* más frecuentes fueron las extrapulmonares, y los niños eran los más afectados debido tal vez, a la ingestión de leche o productos lácteos crudos (Acha y Szyfres, 2003). La carne cruda que proviene de bovinos infectados puede contener el *M. bovis* viable lo que representa un peligro para los consumidores (Moda *et al.*, 1996). Las afecciones pulmonares pueden adquirirse por inhalación de aerosoles que liberan los bovinos infectados (Cosivi *et al.*, 1998) y son más frecuentes en miembros de comunidades rurales que viven en contacto estrecho con sus animales (Moda *et al.*, 1996).

El impacto de la TBB en la salud pública es considerado bajo en los países desarrollados y en vías de desarrollo (Amanfu, 2006) debido a que han logrado erradicar o disminuir la prevalencia de la enfermedad en bovinos. En Argentina entre 1977 y 2003 *M. bovis* fue el responsable del 2.2 % de todos los casos

humanos afectados por alguna micobacteria, el 83 % de los pacientes fueron hombres y el 65 % tuvieron un trabajo directo relacionado con bovinos (trabajadores rurales y de matadero, veterinarios, etc.). En la provincia de Santa Fe los casos de tuberculosis producidos por *M. bovis* se ha mantenido estable entre 1980 y 2003 (Kantor; Ritacco, 2006).

## 2.7 Situación de la TBB en América Latina

En abril de 1991, los ministros de Agricultura de América, en la VII Reunión Interamericana de Salud Animal a nivel Ministerial, realizada en Washington, aprobaron por unanimidad la Resolución XI, por la cual solicitaron al director de la Organización Panamericana de la Salud (OPS) preparara el Plan de Acción para la Erradicación de la TBB en América, en consulta con los gobiernos miembros (Bérgamo *et al.*, 1997)

La evolución de la TBB en distintos países de Sudamérica puede describirse a través de los datos aportados por Kantor y Ritacco (1994). En Uruguay la campaña comenzó en 1963 cuando la prevalencia de la infección era del 4.5 %, 14 años después, la prevalencia bajo al 0.03 %. En Venezuela el programa fue iniciado en 1954 y ha reducido la prevalencia desde el 3.48% al 0.37 % dentro de los primeros 10 años. En Paraguay la prevalencia de reactores a la tuberculina disminuyó del 1.4 % al 0.24 % en el periodo 1981-1990 como resultado de una campaña especial conducida en cuencas lecheras. En Chile y en Perú los programas apuntan a eliminar la tuberculosis y la brucelosis bovina generando grandes áreas reconocidas como libres de ambas zoonosis. Argentina y Brasil tenían en conjunto, 190 millones de bovinos con una prevalencia igual o superior al 1 %.

Kantor y Ritacco (2006) publicaron recientemente una actualización sobre los programas de TBB en América Latina y los países del Caribe. En el mismo, realizaron una separación de los países en tres grupos: de prevalencia baja o nula, de prevalencia intermedia y de prevalencia alta. En América Latina, el grupo de nula o baja prevalencia (menor al 0.1 %) incluye países del Caribe (Antigua, Bahamas, Barbados, Bermuda, Islas Vírgenes, Dominicana, Granada, Guadalupe, Montserrat, Antillas Holandesas, San Cristóbal y Nieves, Santa Lucía, San Vicente y Las Granadinas, Trinidad-Tobago, Jamaica y Cuba), Panamá, Honduras y Belice en América Central. También lo son Colombia, Surinam, Uruguay y Venezuela en América del Sur. El grupo de países con prevalencia intermedia (entre el 0.1 % y el 1 %) incluye a México en América del Norte, Paraguay en América del Sur,

República Dominicana en el Caribe y Nicaragua, Costa Rica y El Salvador en América Central. El grupo de países con alta prevalencia o sin compromiso para reportar información comprende Haití en el Caribe, Guatemala en América Central y varios países de América del Sur (Argentina, Bolivia, Brasil, Chile, Ecuador, Perú, Guyana). En decir que, aproximadamente el 70 % de los bovinos producidos en América Latina están en áreas con alta prevalencia de TBB y solo el 17 % se encuentra en áreas virtualmente libres de la enfermedad.

## **2.8 Situación de la TBB en Argentina**

La situación de la TBB en Argentina se ha determinado a partir de un diagnóstico inicial en rodeos lecheros, de cría y mixtos. La prevalencia de la enfermedad se obtiene en base a la realización de la prueba tuberculínica y a la detección de lesiones compatibles con TBB en frigoríficos (Torres, 2007).

### **2.8.1.1 Antecedentes de TBB en Argentina**

En Argentina la TBB fue descrita por Sívori en 1882 y ya en 1889 había dejado establecido que: a) era rara en el ganado indígena; b) era importada de Inglaterra con las razas perfeccionadas; c) aumentaba con el grado de perfeccionamiento de las razas; d) que es elevada en los planteles refinados, aún en animales nacidos y criados en Argentina y; e) que la enfermedad progresaba año tras año (De Diego, 1974).

Entre 1967 y 1971 se realizó la prueba tuberculínica comparativa en 19 áreas de 11 zonas agroecológicas del país. De 388 establecimientos estudiados, el 37.9 % y 4.3 % de los rodeos y de los animales respectivamente, fueron positivos al test diagnóstico. La prevalencia más alta se encontró en los tambos, seguida por los establecimientos de internada y los de cría. Los niveles de prevalencia más elevados fueron encontrados en la pampa húmeda (Comisión Nacional de Zoonosis, 1982)

En 1977 se tuberculinizaron 71 tambos que abastecen la ciudad de San Fernando del Valle de Catamarca y se encontró que el 7 % de los establecimientos tuvo reaccionantes y la prevalencia fluctuó entre el 2.2 y el 16.6 %. Se concluyó que la TBB estaba poco difundida en los tambos lo que facilitaría su erradicación aunque la eliminación repentina de los reactores podría resultar insostenible económicamente para el productor (Habich *et al.*, 1977).

En 1980 se realizó un relevamiento sobre 44 establecimientos con bovinos de producción de carne del sudeste de Salta y norte de Tucumán. Se detectaron bovinos positivos a la PAC en el 74 % de los rodeos con una prevalencia media del 6 %. La prevalencia de TBB fue menor en establecimientos que no compraban hembras con respecto a los que compraban animales. También se observó que la prevalencia era menor en los rodeos más pequeños (Spath; Mangold, 1986).

Posteriormente, entre 1983-1984, se realizó un relevamiento de TBB examinando 81 establecimientos de producción lechera del valle central de la provincia de Catamarca. Se detectó que el 22.2 % de ellos tenían reactores y el 2.99 % de los bovinos eran reaccionantes a la prueba diagnóstica. Posteriormente, en 1992 se efectuó un segundo relevamiento en 40 establecimientos lácteos resultando reaccionante el 87.5 % de los establecimientos y el 9.7 % de los bovinos. En el año 1984 se examinaron 19 tambos de la cuenca lechera de la provincia de Jujuy resultando reaccionante el 37 % de los establecimientos y el 4 % de los bovinos. Durante el periodo 1990-1991 se realizó el relevamiento en 55 establecimientos ganaderos del Valle inferior del Río Chubut con 927 bovinos tuberculinizados. Fueron reaccionantes el 35 % de los establecimientos y el 9.7 % de los bovinos (Torres, 2007).

Los antecedentes de TBB en Argentina indican que la prevalencia de bovinos positivos oscilo entre el 3 y el 17 % mientras que la prevalencia de rodeos positivos tuvo una variación más amplia, tal vez, debido a los diferentes sistemas de producción estudiados.

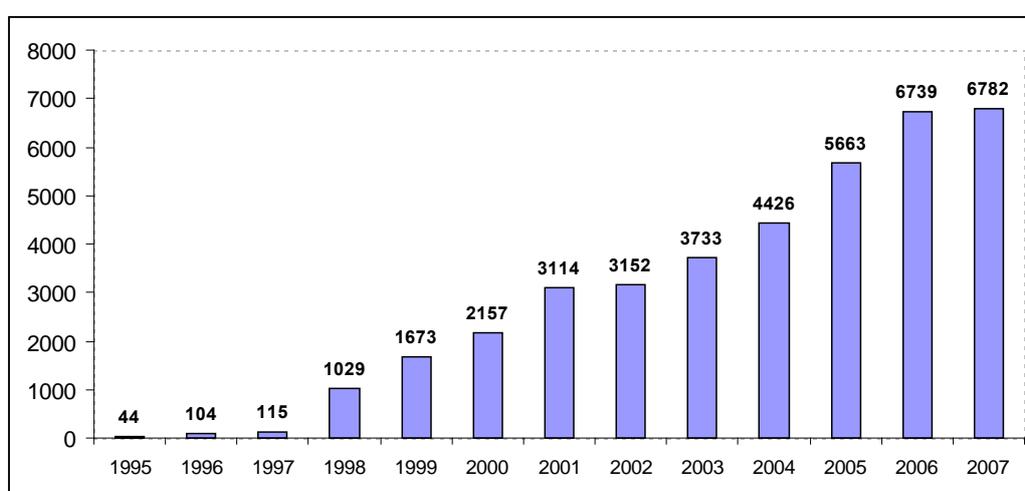
### **2.8.1.2 Situación reciente de la TBB en Argentina**

En Argentina, existen antecedentes de un Plan Nacional de Control y Erradicación de la TBB desde el año 1993 (Bérgamo *et al.*, 1997) aunque el mismo entró en vigencia con obligatoriedad a partir del año 1998 con la resolución del SENASA N° 115/99 (Torres, 2007). La misma, tuvo como objetivo principal erradicar la TBB de los tambos y posteriormente extender el saneamiento y certificación a los rodeos de cría. Argentina, cuenta con 48 millones de bovinos productores de carne, 3 millones de bovinos productores de leche y una elevada prevalencia de TBB, sin embargo no hay una compensación oficial por los animales que deben ser eliminados debido a la enfermedad (Kantor; Ritacco, 2006).

Perez *et al.* (2002b) demostró que la TBB está agrupada geográficamente y esos agrupamientos coinciden con las áreas de producción lechera. El agrupamiento

más importante (primario) estuvo centrado en la provincia de Santa Fe mientras que los agrupamientos secundarios fueron localizados en regiones lecheras tales como Abasto de Buenos Aires, Mar y Sierras (prov. de Bs. As.) y Sur de Villa María (prov. de Córdoba).

En diciembre de 2007 existían en Argentina un total de 6782 establecimientos oficialmente libres de TBB (Figura 1). De ellos, 5985 fueron rodeos de producción de leche, 686 rodeos de producción de carne y 111 rodeos mixtos (Torres, 2007).



**Figura 1: Número de rodeos libres de tuberculosis bovina en Argentina (Adaptado de Torres, 2007).**

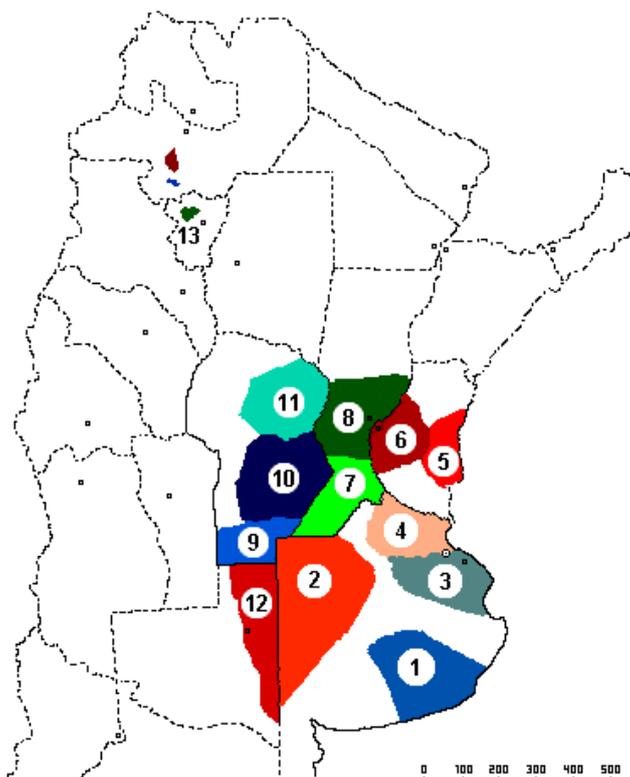
### **2.8.1.3 Situación de la TBB detectada en faena**

Un método que contribuye a estimar la prevalencia de TBB es la información de los decomisos de lesiones compatibles con tuberculosis evaluada por observación macroscópica de los animales faenados en frigoríficos y mataderos. El análisis de la información recolectada por frigoríficos y mataderos con inspección federal, dependientes del SENASA, demostraron que, sobre un promedio de 12.000.000 de bovinos faenados anualmente, la prevalencia detectada en el periodo 1969-2007 fluctuó entre 6.7 % y 1 % respectivamente (Torres, 2007).

Abdala y Tarabla (2004) analizaron los datos de 253 tropas del departamento de San Justo, Córdoba, que fueron enviadas a faena durante el año 2000. Encontraron lesiones compatibles con TBB en el 26.4 % de las tropas y el 3.4 % de los animales examinados.

## 2.9 Los sistemas lecheros en Argentina

Argentina es un país con una lechería importante en continua evolución. Es en la zona agroecológica denominada llanura pampeana, conformada por las provincias de Buenos Aires, Santa Fe, Córdoba, Entre Ríos y La Pampa, donde la producción láctea muestra todo su potencial. La misma, ocupa una superficie de aproximadamente 500.000 kilómetros cuadrados (SAGPyA, 1996). Se puede destacar la existencia de 12 cuencas lecheras (Figura 2): Centro de Santa Fe, Noreste de Córdoba, Entre Ríos, Villa María, sur de Santa Fe, La Pampa Centro-Norte y Sur y las cuencas Abasto Sur, Abasto Norte, Mar y Sierras y Oeste de Buenos Aires.



**Figura 2: Cuencas lecheras de Argentina: 1.Mar y Sierras 2.Oeste de Buenos Aires 3.Abasto Sur 4.Abasto Norte 5.Cuenca "B" 6.Cuenca "A" 7.Sur de Santa Fe 8.Central 9.Sur de Córdoba 10.Villa María 11.Noreste de Córdoba 12.La Pampa 13.Cuenca Las Trancas (Fuente: SAGPyA, 1996).**

La producción primaria se concentra en más de un 90 % en las provincias de Córdoba (35%), Santa Fe (34%) y Buenos Aires (26%). Y en menor proporción, en las provincias de Entre Ríos y La Pampa con un 3.5 y 1.5 % respectivamente. En

estas provincias se encuentran las principales cuencas lecheras y casi la totalidad de los tambos e industrias del sector (Bisang *et al.*, 2003).

Las explotaciones lecheras en el país son consideradas en general como empresas medianas, con una superficie total del orden de las 280 Ha de las cuales unas 180 se dedican a las vacas adultas, 75 a la recria y donde se realizan algunas actividades adicionales como la agricultura o ganadería de engorde (Chimicz, 2008). La cantidad media de vacas en ordeño es de 140 animales con una producción media de 17 litros, totalizando una entrega diaria del orden de los 2200 litros diarios. La carga animal, medida como cantidad de vacas totales (VT) sobre superficie dedicada a VT tiene una media de 1.21 vacas/Ha con un desvío estándar de 0.36 vacas/Ha. Viglizzo (1981) menciona que para medir el grado de intensificación de un sistema lechero sería más conveniente hablar de presión de pastoreo en lugar de carga animal.

En Argentina el pastoreo directo es la principal fuente de recursos alimenticios de las vacas del tambo. La dieta promedio de las vacas lecheras se conforma con cerca del 60 % de pastoreo directo de pasturas y verdeos, un 16 % de ensilaje y un 24 % de concentrados (Chimicz, 2008).

## **2.10 Estudios de Casos y Controles**

Los estudios de casos y controles (CC) son del tipo observacional y se utilizan para identificar factores de riesgo, y estimar los efectos cuantitativos de varios componentes causales que contribuyen a la ocurrencia de enfermedad (Thursfield, 1997).

En un estudio de CC, se seleccionan muestras separadas de unidades con (casos) y sin (controles) un evento determinado. Se deben tener criterios específicos para definir a un caso y tratar de excluir unidades falsas positivas que puedan afectar las conclusiones del estudio. Seguidamente, se compara la frecuencia del factor en cada uno de estos grupos mediante el Odds ratio (OR), también llamado razón de los productos cruzados. Teóricamente, los casos y los controles deben ser similares en todos los aspectos excepto para la enfermedad (variable dependiente) que se está investigando. Claro que deberían diferir también en relación con el factor de riesgo estudiado si éste estuviera asociado con la enfermedad (Martin *et. al.*, 1997).

Cuando los casos y controles se seleccionan en forma intencionada, éstos pueden no ser representativos de la población original. Dos métodos que permiten

aumentar la comparabilidad de los grupos son el control analítico y el apareamiento. La selección restringida tiende asimismo a hacer más similares los grupos, puesto que la restricción se aplica tanto a los casos como a los controles. La utilización del apareamiento aumenta la similitud entre los casos y los controles. Se verifican los factores de confusión potenciales y se busca un control con los mismos caracteres.

La información recogida sobre el factor de interés debe ser precisa y sin sesgos. Para obtener datos de la misma forma se puede ocultar al investigador el estado de enfermedad y/o no informar al encuestado la razón exacta del estudio. En los estudios de CC deben calcularse y exponerse las proporciones que se comparan y las medidas epidemiológicas adecuadas de asociación. Si el factor tiene más de dos niveles se debe escoger como grupo de referencia el nivel de factor que tenga más sentido biológico o práctico. Si el factor es ordinal, generalmente, se utiliza el grupo menos expuesto o no expuesto como grupo de referencia ( $OR = 1$ ). De esta forma se arman tablas  $2 \times n$  conteniendo cada una de las  $n$  filas los valores observados para cada categoría de la variable en los grupos caso y control. La interpretación del OR es la siguiente:

$OR = 1$ : El factor y el resultado son independientes.

$OR < 1$ : El factor y el resultado están relacionados. Su presencia actúa protegiendo contra la presencia de la enfermedad.

$OR > 1$ : El factor y el resultado están relacionados. Su presencia actúa como un factor de riesgo para la presentación de la enfermedad.

### **2.10.1 Antecedentes de estudios de CC en TBB**

Para proveer de información sobre el rol que pueden tener algunas prácticas de manejo y características de los establecimientos en la ocurrencia de TBB, se han emprendido varios estudios de CC en distintos lugares del mundo.

Pfeiffer y Morris (1991) realizaron en Nueva Zelanda un estudio de CC para identificar factores de riesgo para la presencia de infección por *M. bovis*. El estudio incluyó los datos de 285 establecimientos, 95 casos, 95 controles aleatorios y 95 controles apareados. Los rodeos casos fueron aquellos que, previamente libres de la infección, estuvieron bajo control del movimiento de los animales durante el período 1986-1989 debido a la identificación de bovinos infectados con TBB a través del test tuberculínico. Los controles apareados tenían el mismo tipo de empresa y estaban localizados en las inmediaciones del caso mientras que los controles aleatorios fueron seleccionados en el mismo distrito. Se registraron los

datos con un cuestionario de 134 puntos y en un periodo de tres años se realizaron todas las encuestas. Los resultados demostraron para ambas comparaciones que la tuberculosis estaba relacionada a estrategias de reemplazo del rodeo general. Los factores de riesgo identificados fueron la compra de animales de más de tres rodeos, la proporción de animales jóvenes ingresados sobre el total de animales ingresados, la proporción de animales jóvenes sobre el total del rodeo y la confianza del propietario sobre las medidas de control oficial de la TBB.

Griffin *et al.* (1996) realizó un estudio de CC en la República de Irlanda para identificar asociaciones entre la ocurrencia de TBB a nivel rodeo y a nivel individuo. A nivel rodeo se seleccionaron 100 casos que tuvieron un foco de tuberculosis en el año 1988 con reconocimiento de lesiones tuberculosas en frigorífico en uno o más animales del rodeo, y 100 controles seleccionados aleatoriamente del área en estudio. A nivel individuo se seleccionaron 196 casos, definiendo como tal, a aquellos animales que reaccionaron al test tuberculínico en 1988 y que pertenecían a rodeos sin reactores en el test previo. Los 196 individuos controles fueron seleccionados de rodeos casos y controles teniendo en cuenta la contribución de los rodeos al total de la población sometida al test diagnóstico. Los factores de riesgo identificados a nivel rodeo fueron el número total de animales en el rodeo y la restricción del movimiento de los rodeos contiguos debido a la ocurrencia de TBB en los 6 meses previos al desarrollo del estudio. A nivel individual se encontró un mayor riesgo de ser positivo al test tuberculínico en aquellos animales que pertenecían a las categorías de vacas, vaquillonas y toros con respecto a los terneros. Mientras que fue menos probable que los animales adquiridos desde la aplicación del test tuberculínico previo fueran positivos al test en relación a aquellos animales que estaban presentes en el rodeo.

Marangon *et al.* (1998) realizó este tipo de estudio en la región de Véneto (Italia) comparando los datos de 27 rodeos con resultados positivos a la prueba intradérmica cervical confirmados con examen *postmortem* con 74 rodeos libres de TBB desde al menos tres años previos al estudio. El objetivo fue explorar el rol que tenían diferentes prácticas de manejo y/o características de los establecimientos en la epidemiología de la TBB. Los factores asociados significativamente con un incremento en el riesgo de presentar uno o más reactores positivos a la prueba cervical fueron la presencia de rodeos mixtos (animales de producción de carne y leche) y la introducción de al menos un bovino desde el último test diagnóstico. Es

decir que, en la región donde se realizó el estudio, la TBB estuvo asociada con factores relacionados al movimiento de bovinos.

Denny y Wilesmith (1999) analizaron factores de riesgo en el norte de Irlanda relacionados al número y tipo de barreras de separación entre los establecimientos contiguos, el número de rodeos vecinos y su historia frente a la TBB. Además evaluaron el factor presencia de animales silvestres. Para ello, realizaron un estudio de CC utilizando 215 rodeos casos y 212 rodeos controles. La prueba utilizada fue el test intradérmico cervical simple y se evitaron aquellos casos de rodeos positivos en los que se sospechaba que el foco fue debido a la introducción de animales infectados. Sólo se incluyeron rodeos lecheros al estudio para que los sistemas de producción tengan condiciones de manejo similares. Los datos fueron colectados por medio de cuestionarios con los productores. El estudio encontró que la TBB estaba asociada a la presencia del tejón (*Meles meles*) y a los rodeos vecinos con focos confirmados de TBB.

Johnston *et al.* (2005) realizó un estudio de CC en Inglaterra antes de la epidemia de fiebre aftosa del año 2001 en ese país. El estudio incluyó datos de 151 establecimientos casos y 117 establecimientos controles. Se dividió el muestreo en tres zonas geográficas, los rodeos controles se eligieron en forma aleatoria para reflejar el tamaño de los rodeos dentro de cada zona. Los cuestionarios fueron completados con una entrevista realizada por personas entrenadas de las oficinas locales de salud animal. Los resultados obtenidos mostraron que, la aplicación de fertilizantes o materia fecal de los corrales en las tierras de pastoreo disminuía el riesgo de TBB. El ingreso de bovinos provenientes de mercados o de la venta de otros establecimientos incremento el riesgo de aparición de focos de TBB. Asimismo, el uso de corrales de alojamiento cubiertos para grandes grupos de bovinos y el uso de "otros" tipos de corrales, fueron factores de riesgo para la ocurrencia de TBB.

Reilly y Couternay (2007) evaluaron prácticas de manejo que podrían influenciar el riesgo de transmisión y por lo tanto la probabilidad de aparición de TBB. Identificaron establecimientos casos y controles a través de los registros nacionales de sanidad en TBB de los rodeos bovinos. El periodo analizado correspondió al período desde 1995 a 1999 pero las entrevistas se realizaron desde 2000 a 2003. Se formaron dos grupos de casos, los establecimientos con TBB esporádica ( $n= 58$ ) y con TBB persistente ( $n= 50$ ) que fueron comparados con un grupo control ( $n= 121$ ). Los establecimientos con TBB esporádica estuvieron por menos de 6 meses

bajo el control de movimiento de sus animales mientras que los establecimientos con TBB persistente lo estuvieron por más de 6 meses durante el periodo en estudio. Los resultados obtenidos mostraron que para ambos tipos de casos la compra de vacas fue un factor de riesgo. Mientras que el ingreso de más de 50 bovinos y el almacenamiento de la materia fecal por más de 6 meses fueron factores de riesgo para la ocurrencia de TBB de presentación esporádica. En tanto que, el uso de ensilaje fue un factor de riesgo para los establecimientos con TBB persistente. Una disminución del riesgo para ambos tipos de establecimientos estuvo asociada a una alta carga animal (>3 bovinos/Ha) y los establecimientos mixtos comparados con aquellos que fueron solo carne o solo tambo.

## 3 MATERIALES Y MÉTODOS

### 3.1 Diseño del estudio

Se realizó un estudio retrospectivo de casos y controles para analizar la asociación entre varios factores de riesgo potenciales y la presencia de TBB en rodeos lecheros. La población base del estudio fueron todos aquellos establecimientos lecheros de la provincia de Córdoba y Santa Fe que se ajustaban a criterios de inclusión predefinidos.

Se analizó la posible exposición retrospectiva a los factores de riesgo hipotéticos por el término de tres años. Este lapso es el período en estudio y corresponde al tiempo transcurrido entre enero de 2005 y diciembre de 2007. Este período se definió debido al período variable de aparición de respuesta a la PAC luego de la infección por el *M. bovis* (Barlow *et al.*, 1997; Perez *et al.*, 2002a).

Los rodeos lecheros estudiados fueron poblaciones abiertas que pudieron tener ingresos y egresos de bovinos al rodeo lechero durante el período en estudio.

### 3.2 Criterios de inclusión

El trabajo se realizó sobre rodeos lecheros en actividad y con una cantidad de vacas totales (vacas en ordeño y vacas secas) mayor a 50 y menor a 500 animales. Solo se incluyeron rodeos lecheros con sistemas de producción pastoril que tuvieron más del 40 % de la superficie asignada al tambo con pasturas perennes, con la intención de que las características de manejo fueran similares.

Se diferenciaron dos unidades de medición:

Unidad de análisis: correspondió al establecimiento agropecuario que contaba con un rodeo lechero en producción al momento de realizar la investigación. A esta unidad se la mencionará como establecimiento lechero.

Unidad epidemiológica: correspondió al rodeo lechero, considerando como tal, al conjunto de bovinos destinados únicamente a la producción láctea. Es sobre estos animales que se registraron los resultados a la prueba tuberculínica. Los factores de exposición y su análisis se interpretaron en relación a este conjunto de animales.

### 3.3 Área de estudio

El trabajo se realizó en las provincias de Córdoba y Santa Fe, que contaban con un total de 3835 y 4020 explotaciones lecheras respectivamente, lo que representa el 25% y el 26.3 % del total de los tambos de Argentina (CNA, 2002).

### 3.4 Determinación del tamaño de muestra

El tamaño de muestra requerido para estudios de CC es dependiente de la prevalencia de exposición al factor y del riesgo relativo de presentar el evento de interés. Para determinar si hubo asociación entre la exposición al factor y la enfermedad, el tamaño de muestra se determinó en base al método de Schlesselmann (Schlesselmann, 1974) utilizando el programa Win episcopé©.

Para ello se definieron los siguientes parámetros:

- Se utilizó un control por cada caso.
- Para la variable "ingreso de bovinos" se estimó un nivel de exposición para los establecimientos controles de 0,30.
- Mínimo Odds Ratio (OR) significativo a detectar de 3.
- Nivel de confianza (probabilidad de cometer un error tipo I) del 90%, vale decir, la probabilidad de afirmar que el OR es significativamente distinto de 1 cuando la exposición al factor no está asociada a la enfermedad.
- Potencia (probabilidad de cometer un error del tipo II) del 80%, vale decir, la probabilidad de afirmar que el OR no es estadísticamente significativo, cuando realmente la exposición al factor está asociada con la enfermedad.

De acuerdo con Schlesselmann, la fórmula para hallar el tamaño de muestra necesario es:

$$n = \frac{\left( Z\alpha \cdot \sqrt{\left(1 + \frac{1}{c}\right) \cdot pm \cdot (1 - pm)} + Z\beta \cdot \sqrt{p1 \cdot (1 - p1) + \frac{p0 \cdot (1 - p0)}{c}} \right)^2}{(p1 - p0)^2}$$

Siendo:

$$pm = \frac{p1 + c \cdot p0}{1 + c} \qquad p1 = \frac{p0 \cdot RR}{1 + p0 \cdot (RR - 1)}$$

Donde:

$Z(\alpha)$  = Valor de la t de Student para el nivel de confianza del 90 %.

$Z(\beta)$  = Valor de la t de Student para la potencia del 80 %.

$p0$  = Proporción esperada de exposición entre los sanos (controles).

$p_1$  = Proporción esperada de exposición entre los enfermos (casos).  
 $p_m$  = Proporción esperada de exposición en la población (casos y controles).  
 $1-p_m$  = proporción esperada de no expuestos en la población.  
 $c$  = relación entre casos y controles. En este estudio es igual a 1.  
 $RR$  = OR estimado de suficiente importancia.

El tamaño de muestra fue calculado para un test de una vía, es decir que permite determinar si la exposición a un factor actuó aumentando el riesgo de ocurrencia de TBB. El resultado del programa indicó que para cumplir con el objetivo deberían estudiarse un total de 62 establecimientos lecheros, 31 casos y 31 controles.

El método de muestreo fue no probabilístico del tipo por conveniencia (Dohoo *et al.*, 2003), es decir que los establecimientos fueron seleccionados en base a la casuística de los Médicos Veterinarios (MV) privados que fueron contactados para que aporten los datos de sanidad de los establecimientos.

### **3.5 Definición de caso**

Todo aquel rodeo lechero que tuvo más de 4 reaccionantes positivos a la PAC durante el año 2007. La información de los resultados a la PAC se obtuvo de los registros de MV habilitados que aplicaron el test tuberculínico, con una interpretación diagnóstica de acuerdo a los procedimientos establecidos en la resolución 115/99 del SENASA (SAGPyA, 1999).

### **3.6 Definición de control**

Todo aquel rodeo lechero registrado como oficialmente libre de TBB ante el SENASA y que ha recertificado su estado de ausencia de reactores a la PAC durante los años 2005, 2006 y 2007. Se obtuvo la información de los resultados a la PAC durante el período en estudio a través de los registros obtenidos por los MV habilitados para tal fin.

### **3.7 Recolección de los datos**

Los registros sobre el manejo y las características del establecimiento fueron colectados entre noviembre de 2007 y junio de 2008 a través de un cuestionario estándar, completado en una entrevista personal con los encargados del manejo del rodeo lechero. Los registros de todos los cuestionarios fueron ingresados en

una base de datos utilizando el programa Microsoft Acces© bajo entorno Windows, para facilitar el manejo y análisis de los datos.

### **3.8 Datos recolectados**

Cada cuestionario estuvo subdividido en tres partes:

VARIABLES DESCRIPTIVAS DE LOS ESTABLECIMIENTOS

Registros del estado sanitario.

Factores de riesgo potenciales.

#### **3.8.1 Variables descriptivas**

Los índices utilizados para caracterizar los establecimientos lecheros se basan en los utilizados por el INTA para evaluar este tipo de sistemas productivos (Andreo *et al.*, 1996). Estas variables fueron utilizadas para describir los establecimientos casos y controles sobre los que se realizó la investigación.

##### Vacas totales

Es la suma de vacas en ordeño y vacas secas.

##### Recría

Total de bovinos hembras, que tienen más de 6 meses de edad y menos de 7 meses de su primera gestación, que están presentes en el establecimiento.

##### Toros

Cantidad de toros que pertenecen al rodeo lechero.

##### Superficie vaca total

Superficie ocupada por las vacas en ordeño, vacas secas y vaquillonas a partir del 7º mes de gestación.

##### Superficie recría

Superficie destinada a la recría de bovinos hembras.

##### Porcentaje de pasturas permanentes

Es el porcentaje de la superficie total del tambo utilizada para la siembra de pasturas.

##### Producción media diaria de leche

Es la producción media diaria de leche calculada como la media aritmética entre el mínimo y el máximo nivel de producción obtenido en el año 2007.

##### Producción de leche por vaca por día

Es la razón entre la producción de leche y la cantidad de vacas en ordeño al momento de la entrevista.

Otros factores descriptivos son el lugar de donde provienen las diferentes categorías de bovinos ingresados al establecimiento durante el periodo en estudio y el uso de la PAC para diagnosticar la condición sanitaria frente a tuberculosis de los mismos.

### **3.8.2 Registros del estado sanitario**

Cada PAC fue registrada con los siguientes datos:

- Mes y año de aplicación
- Total de bovinos tuberculinizados
- Cantidad de bovinos positivos

En los establecimientos casos los resultados a la PAC se registraron como casos prevalentes, es decir, la cantidad de animales positivos sobre el total de bovinos tuberculinizados en el rodeo lechero. En aquellos establecimientos con TBB donde se repitiera la PAC durante el año 2007 se seleccionó como indicadora de enfermedad la última prueba realizada.

En los establecimientos controles se registró el total de animales tuberculinizados durante el período en estudio, a través de los protocolos de tuberculinización oficiales que poseen los MV que realizaron la sanidad en TBB.

### **3.8.3 Factores de riesgo potenciales**

Los factores incluidos en el estudio fueron seleccionados en base a la bibliografía previa y a su probabilidad de ocurrencia en los sistemas lecheros de Argentina.

#### **3.8.3.1 Factores de la tasa de contacto**

Cuatro variables fueron seleccionadas como indicadoras de la tasa de contacto.

##### Carga Animal

Cantidad de vacas totales sobre la superficie vaca total.

##### Número de rodeos en producción

Cantidad de rodeos de vacas en producción que existen en el establecimiento sin tener en cuenta los rodeos de vacas secas y de vacas separadas para tratamiento veterinario.

#### Tipo de establecimiento

Variable con dos categorías: tambo exclusivamente y mixto. Se consideró mixto a todo aquel establecimiento que combina la producción láctea y de carne (vacas de cría y/o novillos en engorde que no provengan del rodeo lechero).

#### Días al desmadre

Es el tiempo de crianza primaria del ternero junto a la madre alimentándose directamente de la ubre hasta la separación de ambos.

### **3.8.3.2 Factores de la alimentación de las terneras**

Todas las variables de alimentación de las terneras son dicotómicas y hacen referencia a la práctica de manejo más utilizada durante el periodo de estudio. Indefectiblemente los terneros recién nacidos toman calostro de su madre luego del parto debido a que la separación inmediata de todos los terneros es, en términos prácticos complicada de realizar.

#### Banco de calostro

Es la práctica de coleccionar calostro de vacas recién paridas y almacenarlo para alimentar luego a terneros recién nacidos.

#### Alimentación con leche cruda

Las terneras se alimentan con leche cruda proveniente de vacas del tambo, tomando directamente desde un cubo o tetina preparado para tal fin.

#### Tratamiento térmico de la leche

Calentamiento de la leche suministrada a los terneros a una temperatura de 65 grados centígrados durante al menos 30 minutos.

#### Alimentación con sustitutos lácteos

Utilización de leche en polvo para alimentar a las terneras sustituyendo, de esta forma, la utilización de leche cruda.

### **3.8.3.3 Factores del ingreso de bovinos**

Para los objetivos de este trabajo, aquellos bovinos producidos en el rodeo lechero que fueron enviados a otros establecimientos y/o que estuvieron en contacto con animales de otros rodeos fueron considerados ingresos si se reincorporaron al rodeo lechero.

Las tres variables se registraron como la cantidad de animales que ingresaron durante el periodo en estudio.

#### Ingreso de Vaquillonas

Cantidad de vaquillonas que ingresaron al establecimiento durante el período en estudio sin discriminar su origen. Se consideró una vaquillona a todo bovino hembra que ingresó para la reposición del plantel en producción con más de 6 meses de edad y hasta los 7 meses de gestación de su primera preñez.

#### Ingreso de vacas

Cantidad de vacas que ingresaron al establecimiento durante el período en estudio sin discriminar su origen, considerándose así a todo bovino hembra que tenga igual o más de un parto.

#### Ingreso de Toros

Cantidad de toros que ingresaron al establecimiento durante el período en estudio sin discriminar su origen. Será considerado ingreso de toro a todo aquel bovino macho con más de 6 meses de edad que ingresa al rodeo lechero con fines reproductivos.

### **3.9 Datos espaciales**

Cada establecimiento incluido en el estudio fue georeferenciado utilizando un sistema de posicionamiento global Garmin (Garmin 12 Chanel©). Las coordenadas geográficas (latitud/longitud) fueron tomadas a menos de 100 metros del tambo, donde se extrae la leche de los rodeos estudiados. Todas las coordenadas fueron procesadas utilizando el programa ArcGIS 9.2© (ESRI 1999-2006) con el fin de georeferenciar los establecimientos investigados e identificar los departamentos donde se realizó el muestreo.

Se utilizó la técnica de rastreo espacial (Kurlldorf; Nagarwalla, 1995) para investigar el posible agrupamiento de los casos al compararlo con lo esperado si los mismos se distribuyeran al azar en el área de estudio. Se asumió una distribución Bernoulli de la enfermedad y se fijó un radio máximo de las ventanas en un 50 % del área de estudio. Se utilizó el método de Monte Carlo para obtener la distribución de la razón de probabilidades y el valor p. El programa SaTScan© versión 8.0 fue utilizado para realizar el análisis de agrupamiento.

### **3.10 Análisis de los datos**

Las variables cuantitativas para describir y comparar los establecimientos fueron evaluadas para el supuesto de normalidad con el test de Shapiro-Wilk. Sólo la

variable producción de leche por vaca en ordeño cumplió el supuesto de normalidad ( $p = 0.1421$ ) y fue analizada con el test t. Todas las demás comparaciones fueron hechas con el test de rangos de Wilcoxon. Se utilizó la correlación de Pearson ( $r$ ) para evaluar la relación entre dos variables y el coeficiente de variación (CV) para determinar la amplitud de la variación. Se utilizaron para presentar los datos gráficos de torta, histogramas y gráficos de caja y bigotes según fuese el más conveniente para cada variable.

Los factores de riesgo potenciales se analizaron en forma individual utilizando el OR para cuantificar la asociación entre la variable independiente y la variable respuesta. Las variables no categóricas fueron divididas en 2 categorías utilizando la mediana como criterio de categorización. El OR se calculó en forma puntual y por intervalos de confianza al 95 %. La significancia estadística de la asociación fue evaluada con el test chi-cuadrado de independencia.

Las variables no categóricas utilizadas para chequear confusión fueron dicotomizadas por la mediana. Se presentan los valores de OR ajustados con su intervalo de confianza al 95 %. Además se presenta el nivel de significancia de la asociación ajustada por potenciales factores de confusión con la técnica de Mantel y Haenzel (Mantel; Haenzel, 1988).

El modelo de regresión logística múltiple fue construido en forma manual con las variables significativas del análisis bivariado y su resultado se comparó con el obtenido en forma automática por selección hacia atrás (Backward selection). Aquellas variables con un nivel de significancia mayor a 0.05 para el test de Wald fueron retiradas del modelo. Asimismo, los diferentes modelos de regresión fueron comparados en base a su *Deviance*. Se evaluó la matriz de correlaciones para evaluar cualquier evidencia de colinealidad entre las variables en estudio.

El software Statistix© versión 8 (Statistix for Windows, 1985-2003) fue utilizado para realizar el análisis estadístico.

## 4 RESULTADOS

Se visitaron un total de 88 establecimientos con rodeos lecheros en producción hasta lograr completar los 62 rodeos que cumplían con los criterios de inclusión predefinidos y de los cuales se pudo obtener, todos los datos requeridos. Las entrevistas fueron hechas entre los meses de noviembre de 2007 y junio de 2008.

### 4.1 Área de estudio

Los establecimientos pertenecían a los departamentos Castellanos, La Capital, Las Colonias, San Cristóbal y San Martín de la provincia de Santa Fe y los departamentos Unión, San Justo y Marcos Juárez de la provincia de Córdoba (Figura 3).

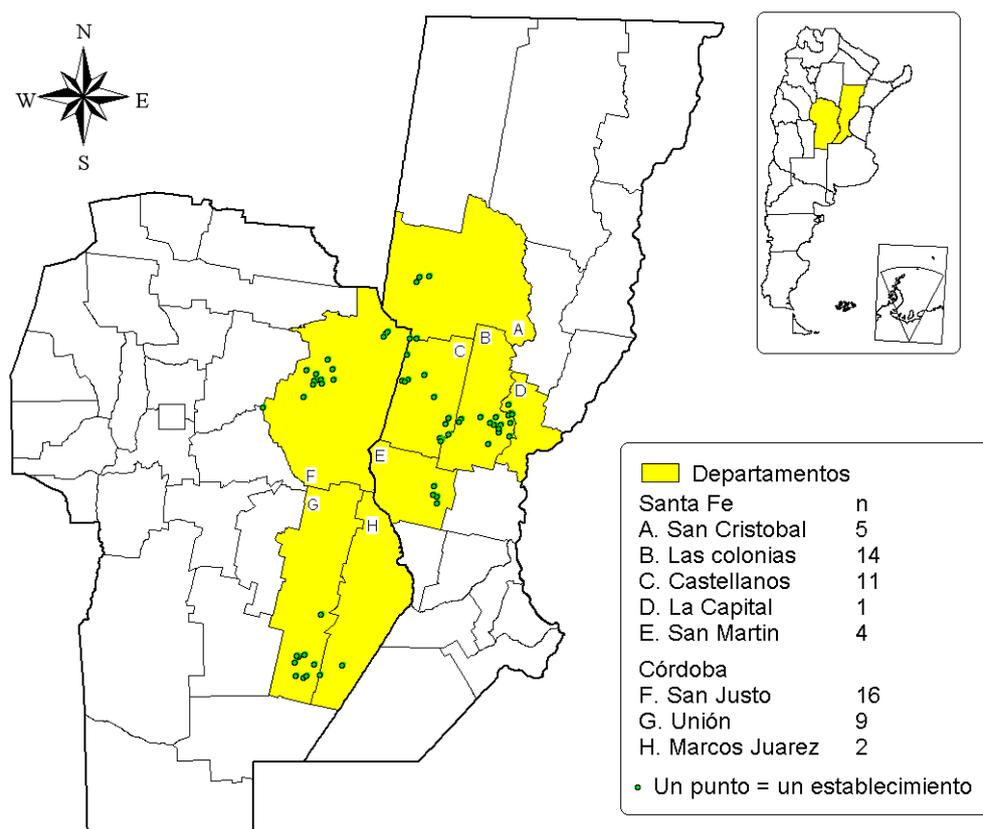


Figura 3: Establecimientos y departamentos de las provincias de Córdoba y Santa Fe donde se realizó el trabajo.

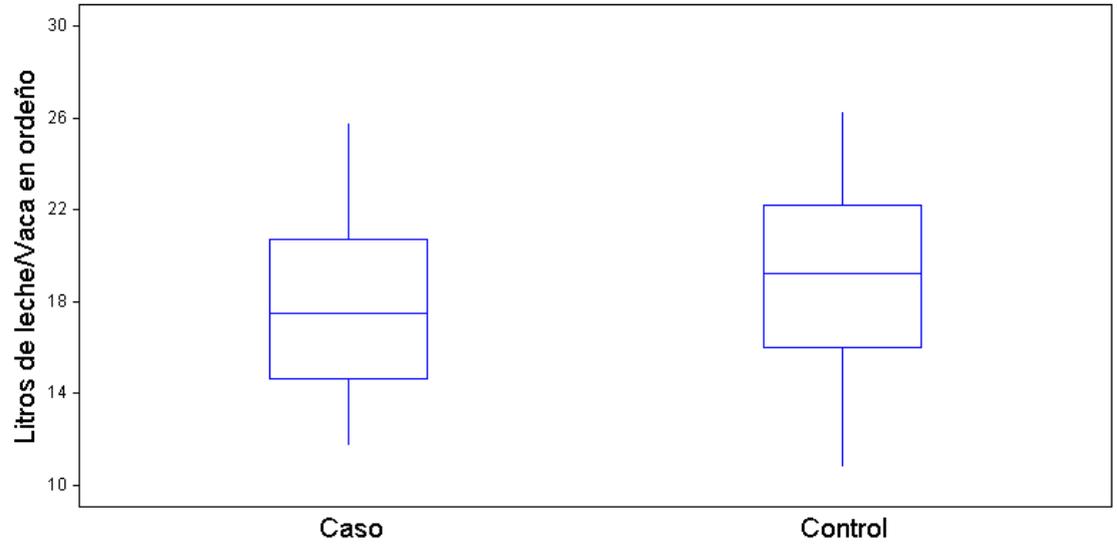
### 4.2 Descripción de los rodeos lecheros

Los rodeos casos y controles no mostraron diferencias significativas entre la producción diaria de leche ( $p = 0.8769$ ), cantidad de vacas totales por

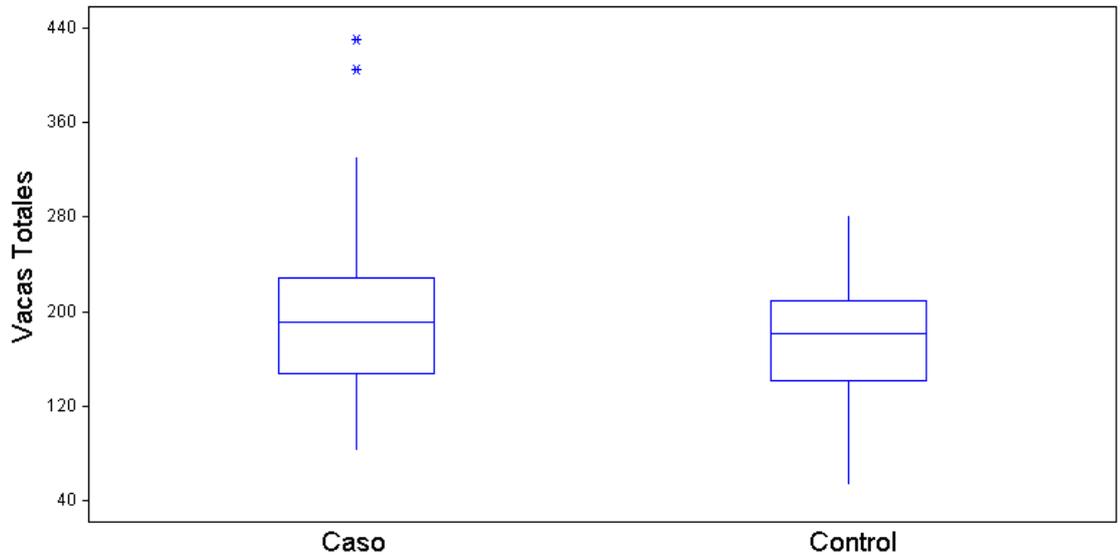
establecimiento ( $p = 0.2341$ ), superficie vaca total ( $p = 0.798$ ) y cantidad de toros que pertenecen al rodeo lechero ( $p = 0.7358$ ). Las variables descriptivas de los establecimientos y su comparación se presentan en la Tabla 2. Se grafican los datos de la producción de leche por vaca en ordeño y vacas totales en la Figura 4 y en la Figura 5.

**Tabla 2: Características de los 31 establecimientos Casos y 31 establecimientos Controles incluidos en el estudio.**

Variables descriptivas	Casos	Controles	p-valor
	Media (DE) Rango	Media (DE) Rango	
Tamaño del rodeo. (número de vacas totales)	210.3 ± 89.13 (84 - 430)	174.1 ± 54.7 (55 - 281)	0.2341
Nº de bovinos en recría	96.22 ± 200.9 (0 - 1020)	116.9 ± 98.7 (0 - 495)	0.0046
Nº de toros	2.09 ± 1.83 (0 - 6)	2.09 ± 2.15 (0 - 10)	0.7358
Superficie Vaca Total (Ha.)	175.52 ± 91.3 (60 - 435)	151.81 ± 59.3 (60 - 280)	0.789
Superficie destinada a la recría (Ha)	35.87 ± 64.72 (0 - 320)	43.71 ± 36.93 (0 - 135)	0.0170
Producción promedio de leche por día (Litros/día)	3041 ± 2040 (750 - 9250)	2636 ± 1278 (450 - 5720)	0.8769
Producción por vaca en ordeño (Litros/vaca)	17.7 ± 3.9 (11.8 - 25)	19.1 ± 4.1 (10.8 - 26.2)	0.1959



**Figura 4: Producción de leche por vaca en ordeño en 31 establecimientos casos y 31 establecimientos controles.**



**Figura 5: Número de vacas totales (vacas en ordeño y vacas secas) en 31 establecimientos casos y 31 establecimientos controles.**

Se encontraron diferencias significativas en la superficie destinada a la recría ( $p = 0.0170$ ) y en la cantidad de bovinos en recría presentes en el establecimiento ( $p = 0.0046$ ) aunque estas dos variables estuvieron correlacionadas ( $r = 0.7985$   $p = 0,0000$ ). La cantidad de vacas totales y la superficie vaca total también estuvieron correlacionadas ( $r = 0.7274$   $p = 0,0000$ ).

En promedio el 57.2 % y el 46.6 % de la superficie tambo total estuvo cubierta por pasturas perennes en los establecimientos casos y controles respectivamente.

### 4.3 Registro sanitario de los establecimientos

Los establecimientos clasificados como casos tuvieron en el año 2007 una prevalencia media a la PAC del 14,4 % con un rango del 2,18 % al 71,1 %. La cantidad de animales tuberculizados durante dicho año fue de 8688 (52.3 %) y 7908 (47.7%) bovinos en los establecimientos casos y controles respectivamente. En los establecimientos casos la cantidad total de animales positivos a la PAC fue de 1096 bovinos. Los resultados a la prueba tuberculínica y la cantidad de bovinos tuberculizados por establecimiento se grafican en la Figura 6.

Un total de 25 MV aportaron los datos de sanidad de los 62 establecimientos en estudio. Del total, 5 MV aportaron registros de establecimientos casos y controles mientras que, 9 y 11 de ellos aportaron exclusivamente datos de establecimientos casos y controles, respectivamente.

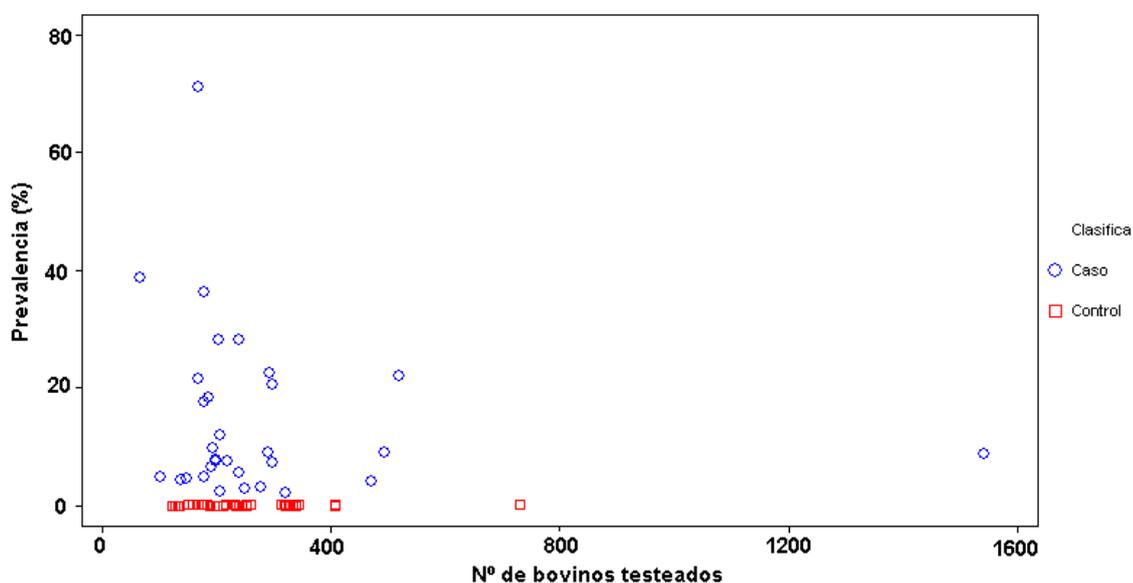


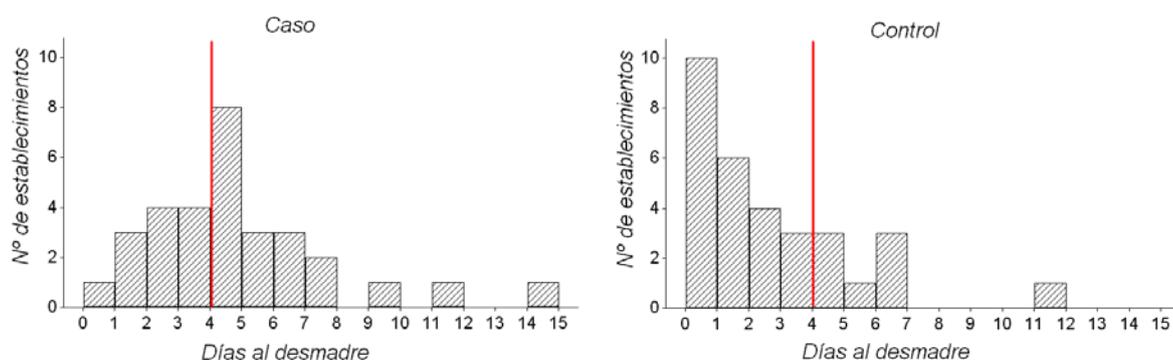
Figura 6: Cantidad de bovinos tuberculizados en el año 2007 en establecimientos casos y controles y prevalencia a la PAC.

## 4.4 Análisis bivariado

### 4.4.1 Factores de la tasa de contacto

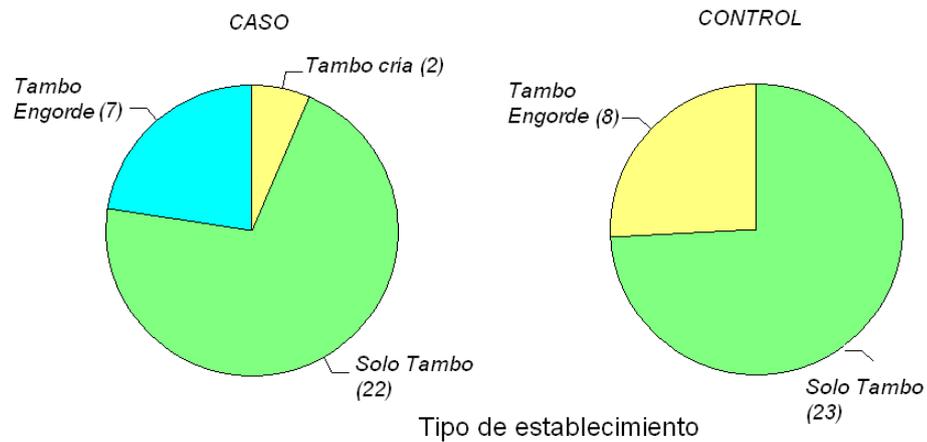
#### 4.4.1.1 Descripción

La variable días al desmadre tuvo una amplia dispersión de los datos ( $CV = 68.78$ ) con un valor medio de  $3.2 \pm 2.5$  días en rodeos controles y  $5.3 \pm 2.9$  días en rodeos casos. La distribución de esta variable en los establecimientos casos y controles se grafica en la Figura 7.



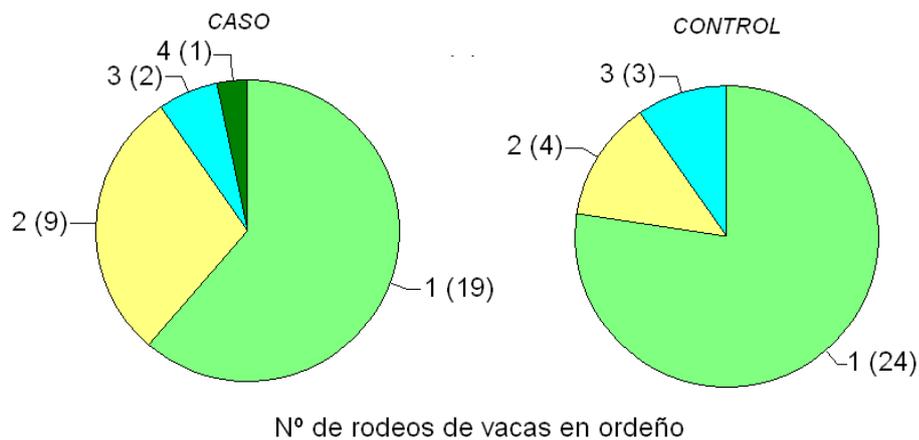
**Figura 7: Días al desmadre en 31 establecimientos casos y 31 establecimientos controles. La línea vertical representa el valor de la mediana.**

Los establecimientos mixtos fueron rodeos lecheros con bovinos de producción de carne dentro del mismo establecimiento. Los establecimientos categorizados como sólo tambos tuvieron la producción láctea como la única producción de origen bovino (Figura 8).



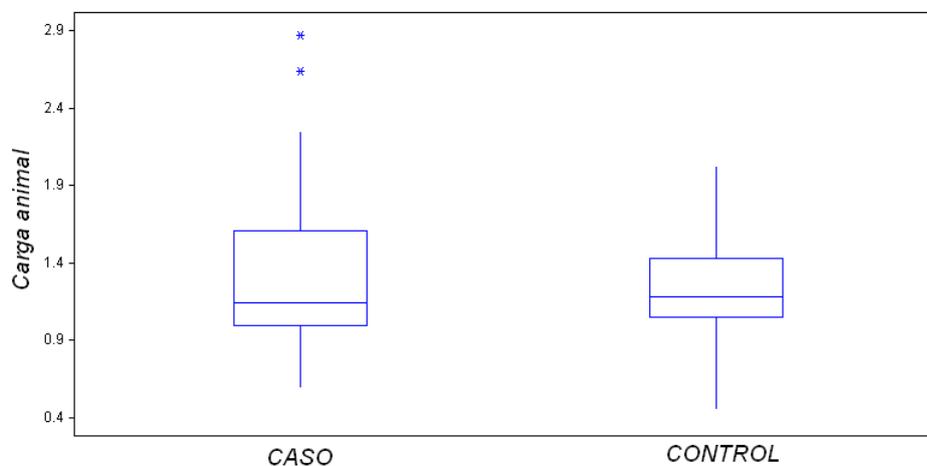
**Figura 8: Tipo de establecimiento en 31 establecimientos casos y 31 establecimientos controles.**

El número de rodeos de vacas en ordeño estuvo en un rango de uno a cuatro (Figura 9) y se consideró como factor de exposición mantener todas las vacas del rodeo lechero en un solo grupo. Algunos rodeos tuvieron grupos pequeños conformados por vacas en tratamiento de diversas patologías pero éstas, no se incluyeron en la clasificación.



**Figura 9: Número de rodeos de vacas en ordeño por establecimiento en 31 establecimientos casos y 31 establecimientos controles.**

La carga animal fue estimada como la cantidad de vacas totales sobre la superficie que se destina en forma anual para estos animales (Figura 10). La superficie vaca total incluye la destinada a la siembra de pasturas, verdeos y reservas destinadas a las vacas del rodeo lechero.



**Figura 10: Carga animal en 31 establecimientos casos y 31 establecimientos controles.**

#### 4.4.1.2 Análisis

Los resultados del análisis de datos se encuentran en la Tabla 3. Sólo la variable días al destete resultó significativa. Mientras que los establecimientos mixtos, el número de rodeos en ordeño por establecimiento y la carga animal no estuvieron asociados a la ocurrencia de TBB.

**Tabla 3: Factores de la tasa de contacto con su punto de corte, distribución en la tabla de contingencia, OR e intervalo de confianza y el p-valor del test de independencia chi-cuadrado.**

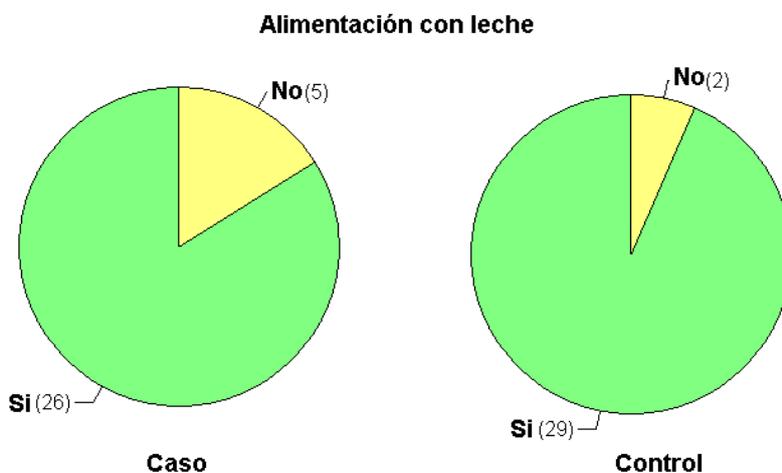
Descripción		Caso	Control	OR	IC 95 %	$\chi^2$ p-valor
Días al desmadre	> 4	19	8	4.55	1.54-	0.0048
	<= 4	12	23		13.4	
Establecimiento Mixto	Si	9	8	1.17	0.38-	0.7759
	No	22	23		3.59	
Rodeos de vacas en ordeño	= 1	19	24	0.46	0.15-1.4	0.1684
	> 1	12	7			
Carga Animal	> 1.17	15	16	0.88	0.32-	0.7995
	<=1.17	16	15		2.38	

## 4.4.2 Factores de la alimentación de las terneras

### 4.4.2.1 Descripción

Sólo el tipo de alimentación en las hembras fue evaluada como un factor de riesgo potencial debido a que algunos establecimientos alimentaron en forma diferenciada los terneros machos de las hembras durante el período en estudio. En aquellas situaciones en las que los terneros machos fueron seleccionados para reproducción dentro del mismo rodeo, su tipo de alimentación, no se incluyó en el análisis.

Dos establecimientos controles utilizaron el sistema de alimentación con vaca sustituta para todos los terneros criados. Es decir que tenían vacas exclusivamente para amamantar terneros. Este sistema de manejo fue incluido como alimentación con leche. La proporción de establecimientos que alimentaban sus terneras con leche cruda se observa en la Figura 11 .



**Figura 11: Proporción de rodeos que alimentaron a sus terneras con leche cruda en 31 establecimientos casos y 31 establecimientos controles.**

### 4.4.2.2 Análisis

El análisis de estos factores demostró que no hay relación entre el tipo de alimentación de las terneras y la ocurrencia de TBB (Tabla 4). Sólo un establecimiento utilizaba un equipo pasteurizador para el tratamiento de la leche, previo a la alimentación de las terneras, esta baja frecuencia del factor no permitió estimar el OR.

El análisis de los establecimientos que suministraban sustituto lácteo no se incluyó debido a que son los mismos que no dan leche por lo que estas variables están correlacionadas en forma negativa.

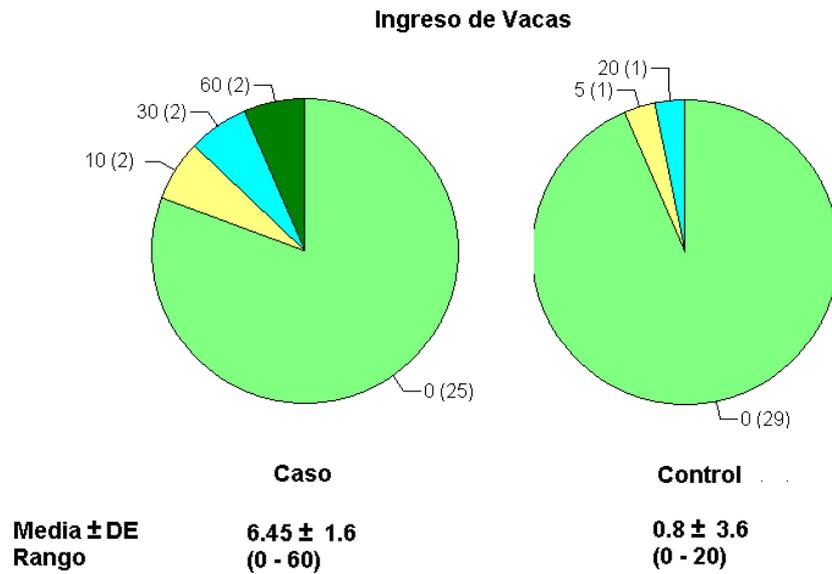
**Tabla 4: Factores de la alimentación de las terneras con su distribución en la tabla de contingencia, OR e intervalo de confianza y el p-valor del test de independencia chi-cuadrado.**

Descripción		Caso	Control	OR	IC 95 %	$\chi^2$ p-valor																
Alimentación con leche cruda a las terneras	Si	26	29	0.35	0.06- 2.00	0.2286																
	No	5	2				Banco de calostro	Si	1	2	0.48	0.04- 5.62	0.5540	No	30	29	Pasteurización de la leche	Si	0	1	-----	-----
Banco de calostro	Si	1	2	0.48	0.04- 5.62	0.5540																
	No	30	29				Pasteurización de la leche	Si	0	1	-----	-----	0.3134	No	31	30						
Pasteurización de la leche	Si	0	1	-----	-----	0.3134																
	No	31	30																			

#### 4.4.3 Factores del ingreso de bovinos

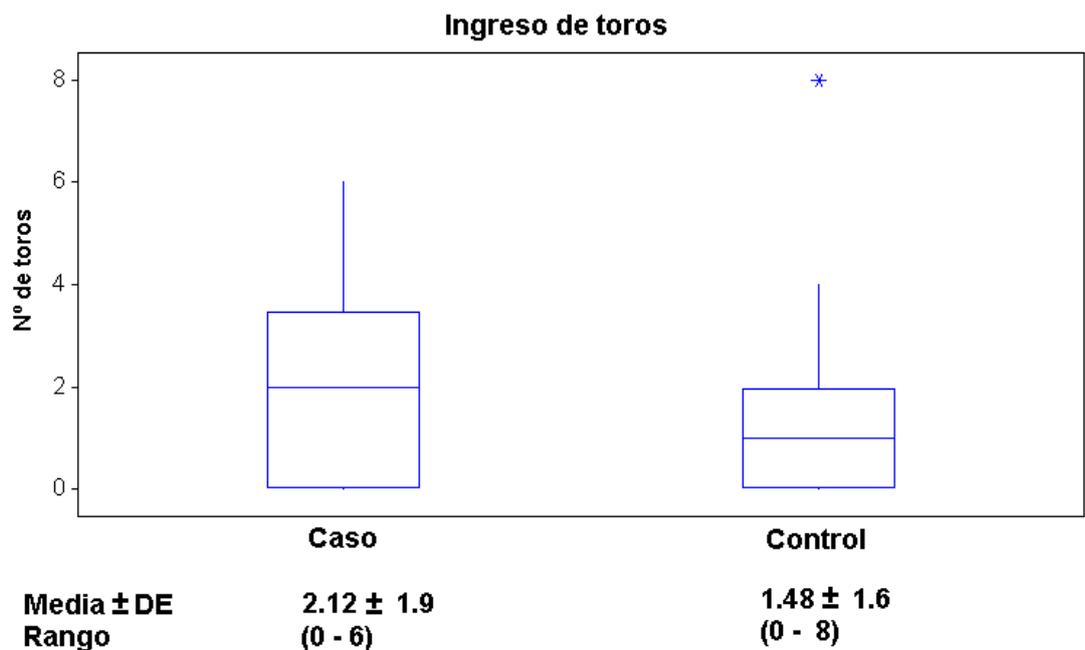
##### 4.4.3.1 Descripción

Se ha registrado en este trabajo establecimientos que fueron cerrados al ingreso de bovinos durante el período en estudio. De los 62 establecimientos investigados sólo ocho ingresaron vacas, 37 ingresaron vaquillonas y 40 ingresaron toros. El número de establecimientos que ingresaron vacas durante el período en estudio fue bajo, en relación al ingreso de toros y vaquillonas.



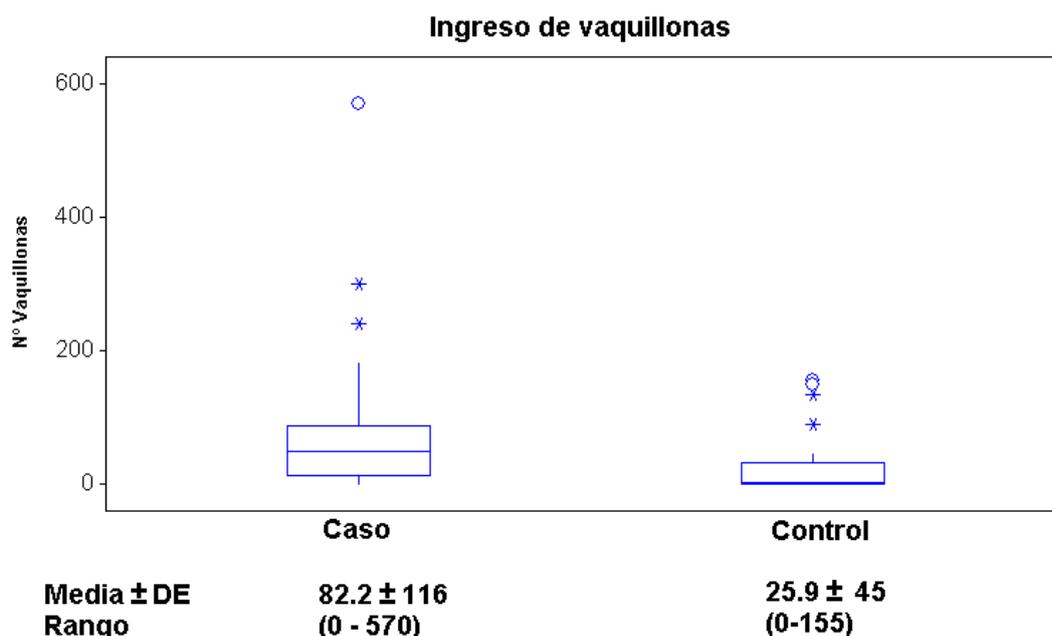
**Figura 12: Ingreso de vacas en 31 establecimientos casos y 31 establecimientos controles.**

Un total de 20 establecimientos casos y 20 establecimientos controles fueron abiertos al ingreso de toros durante el período en estudio, sin embargo, su variabilidad ( $CV = 103.12$ ) y falta de normalidad ( $p < 0.000$ ) nos permitió evidenciar diferencias en la cantidad de toros ingresados (Figura 13).



**Figura 13: Ingreso de toros en 31 establecimientos casos y 31 establecimientos controles.**

El ingreso de vaquillonas también fue variable (CV = 170.7). En total, 18 y 7 establecimientos controles y casos respectivamente, fueron cerrados al ingreso de esta categoría de bovinos. Algunos establecimientos recriaban vaquillonas de otros tambos y su ingreso fue registrado, eso explica porqué existen algunos valores extremos en esta variable (Figura 14).



**Figura 14: Ingreso de vaquillonas en 31 establecimientos casos y 31 establecimientos controles.**

Al analizar el origen de los ingresos se encontró que, el origen más frecuente de las vaquillonas fue de otros tambos (43 %), de campos de recria (38 %) y el resto, de otros orígenes (19 %). Los ocho establecimientos que ingresaron vacas las adquirieron de otros tambos. Mientras que el origen de los toros ingresados fue principalmente de cabañas (72.5 %), otros tambos (15 %) y de otros orígenes (12.5 %).

Tan solo el 13 % de las vaquillonas fueron testeadas con la PAC al momento de ingresarlas al establecimiento, mientras que el 1.6 y el 10 % de las vacas y toros fueron sometidas a este test diagnóstico al momento del ingreso (Tabla 5).

**Tabla 5: Número de establecimientos que ingresan bovinos y realizan la PAC al momento de ingresar los animales.**

Categorías	Ingresan bovinos <i>n</i> (%)	Realizan la PAC <i>n</i> (%)	Total <i>n</i> (%)
Vaquillonas	37 (59.7)	8 (12.9)	62 (100)
Vacas	8 (12.9)	1 (1.6)	62 (100)
Toros	40 (64.5)	6 (9.7)	62 (100)

#### 4.4.3.2 Análisis

Al analizar las variables como factores dicotómicos se identificaron dos factores de riesgo, el ingreso de vaquillonas y el ingreso de toros (Tabla 6).

A pesar de que la cantidad de establecimientos que ingresaron toros es la misma en ambos grupos, los establecimientos casos han ingresado una mayor cantidad durante el período en estudio de manera significativa ( $p = 0.0297$ ). También se encontró una asociación significativa ( $p = 0.0223$ ) entre ingresar más de 19 vaquillonas y la ocurrencia de TBB. El ingreso de vacas no estuvo asociado a la enfermedad (Tabla 6).

**Tabla 6: Factores del ingreso de bovinos con su punto de corte, distribución en la tabla de contingencia, OR e intervalo de confianza y el p-valor del test de independencia chi-cuadrado.**

Descripción		Caso	Control	OR	IC 95 %	$\chi^2$ p-valor
Ingreso de vaquillonas	> 19	20	11	3.31	1.17-	0.0223
	<=19	11	20		9.35	
Ingreso de vacas	Si	6	2	3.48	0.64-	0.1297
	No	25	29		18.7	
Ingreso de toros	> 2	14	6	3.43	1.10-	0.0297
	<= 2	17	25		10.7	

#### 4.5 Análisis espacial

Se detectaron dos agrupamientos de establecimientos casos en la zona de estudio. El agrupamiento primario con un radio de 100,93 km fue significativo ( $P = 0.001$ ) y el agrupamiento secundario con un radio de 15,83 km no fue significativo ( $P = 0.873$ ). Los establecimientos que entraron dentro del agrupamiento primario fueron agregados a la regresión logística como un factor de ajuste.

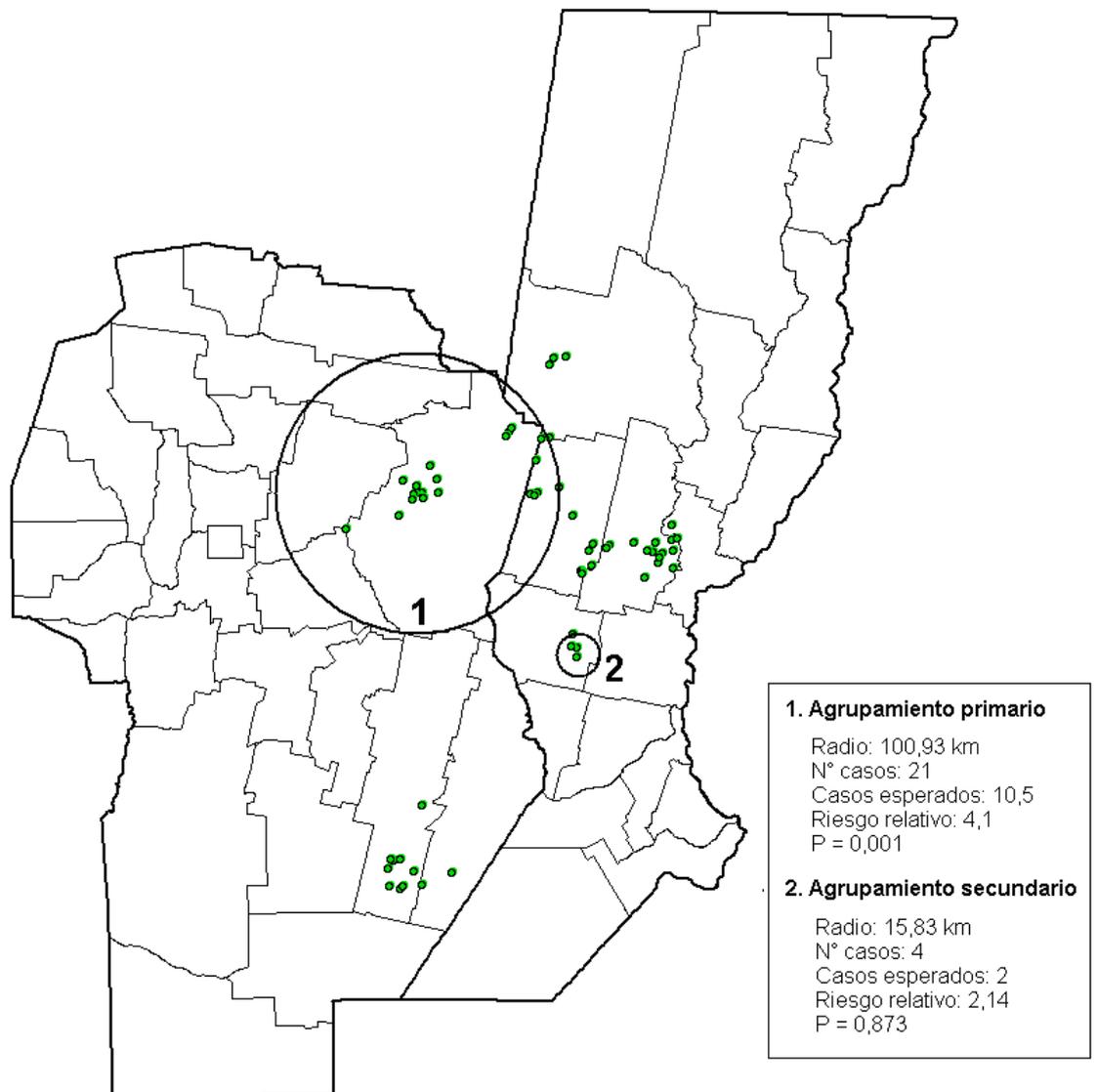


Figura 15: Agrupamiento primario y secundario de establecimientos casos detectados en el área de estudio.

## 4.6 Análisis múltiple

### 4.6.1 Evaluación de interacción y confusión

Los factores asociados significativamente ( $p < 0.05$ ) con la ocurrencia de TBB fueron: a) más de cuatro días al desmadre de las terneras; b) el ingreso de más de 19 vaquillonas; c) el ingreso de más de 2 toros.

**Tabla 7: Potenciales factores de confusión, OR y su intervalo de confianza ajustado y el p-valor al test de Mantel-Haenzel para las tres variables seleccionadas en el análisis bivariado.**

#### Días al desmadre

Potencial factor de confusión	OR ajustado	IC 95 %	p - valor
Establecimiento Mixto	4,7	1,55 - 14,22	0,0056
Leche cruda	5,3	1,72 -16,32	0.0032
Sustituto lácteo	5,87	1,86 - 18,56	0,0021
Vacas totales > 187	4,69	1,57 - 14,03	0,0053
Agrupamiento primario	0,72	0,13 – 4,12	0,7134

#### Ingreso de vaquillonas

Potencial factor de confusión	OR ajustado	IC 95 %	p – valor
Establecimiento Mixto	3,84	1,27 – 11,63	0,0164
Ingreso de toros > 2	3,08	1,05 – 9,02	0,0401
Ingreso de vacas	3,2	1,11 – 9,20	0,0311
Superficie Vaca total > 150 Ha	3,41	1,19 – 9,77	0,0223
Superficie Recría > 30 Ha	2,49	0,79 – 7,81	0,1186
Vacas totales > 187	3,56	1,23 – 10,36	0,0194
Agrupamiento primario	4,24	0,91 – 19,77	0,0589

#### Ingreso de toros

Potencial factor de confusión	OR ajustado	IC 95 %	p – valor
Establecimiento Mixto	3,42	1,09 – 10,75	0,034
Ingreso vaquillonas > 19	3,17	0,98 – 10,28	0,0538
Ingreso vacas	3,81	1,19 – 12,25	0,023
Vacas totales > 187	3,8	1,18 -12,27	0,024
Número de toros > 2	4,49	1,13 – 17,83	0,0287
Agrupamiento primario	1,79	0,35 – 9,02	0,4849

Los factores seleccionados fueron ajustados por potenciales factores de confusión. El OR ajustado y el nivel de significancia obtenida al test de Mantel-Haenzel se observan en la Tabla 7.

La variable superficie de recría mayor a 30 Ha estuvo correlacionada en forma negativa ( $r = -0.4518$   $p = 0,0002$ ) con el ingreso de vaquillonas. Esta última fue no significativa al test de Mantel-Haenzel ( $p = 0.1186$ ) y su OR se modificó en un 25 % al ajustarla por la superficie de recría. Esto indica que la superficie de recría es un factor de confusión para el factor ingreso de vaquillonas y un modelo ajustado debe ser construido.

El agrupamiento espacial fue identificado como un factor de confusión para las tres variables que habían resultado significativas en el análisis bivariado. Esto sugiere que la distancia entre establecimientos casos podría estar interactuando tanto en la distribución de dichos factores como en la distribución de la enfermedad. El agrupamiento espacial también debe ser incluido en el análisis múltiple.

#### 4.6.2 Modelo de regresión logística múltiple

Las tres variables significativas en el análisis bivariado fueron evaluadas en conjunto en un modelo de regresión logística múltiple. Las variables seleccionadas presentaron una baja correlación entre ellas ( $r < 0.2300$ ).

La interacción ingreso de toros e ingreso de vaquillonas no aportó en forma significativa al modelo completo ( $p = 0.079$ ) y fue retirada del mismo. La variable introducción de toros no tuvo un aporte significativo en el modelo ( $p = 0.1455$ ). El modelo final incluyó sólo las variables más de cuatro días al desmadre y el ingreso de vaquillonas. Los valores de los coeficientes, su nivel de significación y el OR se encuentran en la Tabla 8.

**Tabla 8: Modelo de regresión logística múltiple.**

Variables	Coefficiente	p-valor	OR	IC 95 %
Constante	-1.25817	0.0095		
DD	1.52492	0.0082	4.59	1.48 – 14.24
VQ	1.20704	0.0340	3.34	1.10 – 10.20

VQ: ingreso de vaquillonas > 19; DD: Días al desmadre > 4

### 4.6.3 Modelo de regresión logística múltiple ajustado

#### 4.6.3.1 Ajuste por la superficie de recría

Cuando el modelo de regresión múltiple es ajustado por superficie de recría sólo la variable días al desmadre fue significativa (Tabla 9). Esto indica que, en aquellos establecimientos que tienen más de 30 Ha adjudicadas a la recría, el ingreso de vaquillonas no esta asociada a la ocurrencia de TBB.

**Tabla 9: Modelo de regresión logística múltiple ajustado por el factor superficie de recría.**

Variables	Coeficiente	p-valor	OR	IC 95 %
Constante	- 0.62466	0.3087		
DD	1.72266	0.0053	5.60	1.67 – 18.79
VQ	0.77552	0.2186	2.17	0.63 – 7.47
Sup. Rec.	- 1.05036	0.1122	0.35	0.10 – 1.28

DD: Días al desmadre > 4; VQ: ingreso de vaquillonas > 19; Sup. Rec.: Superficie de recría > 30 Ha.

En los establecimientos investigados que tuvieron una superficie de recría mayor a 30 Ha, la ocurrencia de TBB sólo estuvo asociada al manejo del destete en terneras ( $p = 0.0053$ ).

#### 4.6.3.2 Ajuste por el agrupamiento espacial

Las dos variables significativas en el análisis múltiple fueron ajustadas por el agrupamiento espacial. Los resultados demuestran que: el factor días al destete esta afectado por la cercanía entre los establecimientos casos. El factor ingreso de vaquillonas se ve afectado también por la cercanía de los establecimientos casos, aunque deja de ser significativo en forma marginal (Tabla 10).

**Tabla 10: Modelo de regresión logística múltiple ajustado por el factor agrupamiento espacial.**

Variables	Coeficiente	p-valor	OR	IC 95 %
Constante	-1.87618	0.0056		
DD	-0.07007	0.9406	0.93	0.15 – 5.90
VQ	1.43579	0.0708	4.20	0.89 – 19.95
Agrupamiento	10.7742	0.4787	-----	-----

DD: Días al desmadre > 4; VQ: ingreso de vaquillonas > 19.

## 5 DISCUSIÓN

En el presente trabajo se investigó la asociación entre ciertos factores de manejo y la ocurrencia de TBB en rodeos lecheros. El método utilizado fue un estudio de casos y controles que permitió identificar y cuantificar la asociación entre los factores de riesgo y la ocurrencia de TBB.

### 5.1 Descripción de los establecimientos

La similitud en los niveles de producción de leche en los establecimientos investigados nos indica que, bajo las condiciones de alimentación pastoril, los establecimientos presentaron rodeos lecheros constituidos por animales de razas y edades similares. Una aseveración similar es realizada por Holmes *et al.* (1984) para los tambos pastoriles de Nueva Zelanda. Asimismo, la falta de diferencia en producción de leche a nivel individual indica que los establecimientos mantienen un nivel nutricional y genético homogéneo.

La similitud encontrada en el tamaño del rodeo nos permite concluir, en base a las afirmaciones de Martin *et al.* (1997), que el riesgo biológico asociado al número de animales susceptibles es similar en los rodeos estudiados. Y aunque el tamaño del rodeo no fue evaluado como un factor de riesgo en este estudio, otros trabajos (Griffin *et al.*, 1996; Reilly; Courtenay, 2007) han encontrado diferencias en este factor, demostrando un tamaño de rodeos más grandes en establecimientos casos que en establecimientos controles. Griffin *et al.* (1996) afirmó que el tamaño del rodeo es un importante factor de riesgo para la TBB ya que, con más animales en riesgo, es más probable que al menos uno adquiera la infección. Sin embargo, Reilly y Courtenay (2007) mencionan que la interpretación de sus resultados podría resultar confusa debido a que encontrar rodeos de mayor tamaño en establecimientos casos puede ser el resultado de un incremento en la probabilidad de encontrar resultados positivos al test diagnóstico.

La menor superficie destinada a la recría y la menor cantidad de animales en recría en los establecimientos casos en relación a los controles hace suponer que en los establecimientos con TBB las vaquillonas se recrían fuera del predio. Aunque estudios realizados en Argentina por Castignani *et al.* (2005) indican que el 85 % de los productores lecheros hace la recría dentro del mismo establecimiento. En Argentina es frecuente que los productores lecheros produzcan sus propios animales de reposición ya que, como lo menciona Andreo (2007) se obtiene un

beneficio económico al reponer las vacas descartadas con vaquillonas propias pudiendo incluso llegar a vender los excedentes.

## 5.2 Situación sanitaria de los rodeos casos y controles

Con más de 4 reactores positivos a la PAC en los rodeos casos consideramos que la fuente de infección para otros bovinos susceptibles se encuentra principalmente dentro del rodeo, de acuerdo a lo sugerido por Goodchild y Clifton-Hadley (2001) en sus inferencias sobre el número de reactores al test tuberculínico en grupos de animales. A diferencia de otros estudios de CC (Marangon *et al.*, 1998; Griffin *et al.*, 1996; Johnston *et al.*, 2005) no se detectó en estos rodeos la presencia de animales con lesiones y/o signos compatibles con TBB. Pero, en base a las afirmaciones de Christensen y Gardner (2000), haber utilizado un punto de corte mayor que otros estudios previos nos permitió trabajar con una menor probabilidad de clasificación errónea de los rodeos con TBB.

Al igual que en otros trabajos (Griffin *et al.*, 1996; Marangon *et al.*, 1998) no fue posible confirmar el verdadero estado sanitario frente a la TBB de los rodeos controles mediante técnicas diagnósticas complementarias (necropsias, cultivo bacteriológico, PCR, etc.). Pero es conocido que, la sensibilidad de la PAC a nivel individual está en un rango de 63 al 84 % (De la Rúa-Domenech *et al.*, 2006) y se incrementa a nivel rodeo, por lo que la probabilidad de haber incluido algún rodeo falso negativo resulta ser muy baja. Además, como los controles fueron negativos por tres veces consecutivas al test tuberculínico desde el año 2005 la probabilidad de rodeos falsos negativos se reduce aún más, como lo afirma Marangon *et al.* (1998) en su estudio bajo condiciones de diseño similares.

## 5.3 Días al desmadre

La asociación encontrada entre días al desmadre y la ocurrencia de TBB en el rodeo lechero ( $P = 0.0048$ ) puede estar sugiriendo una transmisión directa de la madre al ternero. Las vías de transmisión pueden ser por aerosoles contaminados (Kaneene; Pfeiffer, 2006) o por el calostro infectado procedente de su madre (Serrano-Moreno *et al.*, 2008). Una mayor cantidad de tiempo de contacto entre el ternero y su madre aumenta las interacciones y por ende la probabilidad de contagio del *M. bovis*. A esta condición se agrega una mayor predisposición del ternero a las enfermedades infecciosas durante los primeros 10 a 15 días de vida cuando los mismos están bajo condiciones de estrés (Radostits *et al.*, 1985).

Existe una hiporeactividad inmunológica general asociada al parto que en vacas tuberculosas implica una anergia a la PAC (Radostits *et al.*, 2002). Esto puede estar favoreciendo una reactivación de la infección por *M. bovis* en el periparto aumentando la excreción de la bacteria (Serrano-Moreno *et al.*, 2008), período durante el cuál tiene máximo contacto con el ternero. Es posible que, como lo afirma Phillips *et al.* (2003), la inmunosupresión se deba al efecto de los corticoesteroides producidos por el feto en las fases previas al parto.

#### **5.4 Establecimientos mixtos**

La falta de asociación entre la presencia de reactores a la PAC y los establecimientos mixtos nos indica que, la presencia de animales de producción de carne dentro del establecimiento no representa un riesgo para la ocurrencia de la enfermedad en los rodeos lecheros estudiados. Sin embargo, Marangon *et al.* (1998) encontró una asociación entre los establecimientos mixtos (carne y leche) y la presencia de reactores positivos al test tuberculínico y afirmó que dicha asociación podría deberse al ingreso de animales que no son notificados a los agentes sanitarios. Además, el autor manifiesta que la introducción de animales para producción de carne en rodeos lecheros representa un alto riesgo de infección debido a que provenían de mercados que concentraban animales de diferentes regiones de cría bovina. Sin embargo, en un estudio realizado en Reino Unido por Reilly y Courtenay (2007) se encontró que los establecimientos mixtos tenían menor riesgo de presentar la enfermedad, en relación a aquellos establecimientos que eran sólo tambo o sólo para producción de carne. Es importante remarcar que, al igual que lo observado por Johnston *et al.* (2005) en su trabajo, el ajuste de los factores de riesgo identificados por el tipo de establecimientos no alteró los resultados obtenidos en este estudio.

#### **5.5 Número de rodeos en ordeño por establecimiento**

La falta de asociación encontrada en este estudio entre el número de rodeos en ordeño y la ocurrencia de TBB podría estar relacionada a la inclusión de tambos con menos de 500 vacas totales, lo cual ha disminuido la dispersión de este dato. Si bien es conocido que la separación de un rodeo en grupos más pequeños reduce la transmisión del *M. bovis* (Goodchild; Clifton-Hadley, 2001) esta práctica en Argentina requiere de una mayor mano de obra lo cual está vinculado directamente al tamaño de la explotación (Whebe; Civitaresi, 2001).

## 5.6 Carga animal

A pesar de que otros estudios han demostrado que el incremento de la densidad animal es un importante factor para la transmisión de la TBB (Neill citado por Barlow *et al.*, 1997), en este trabajo no se encontraron diferencias en carga animal entre establecimientos casos y controles. Esta similitud encontrada nos permite inferir que la probabilidad de transmisión del *M. bovis* en los rodeos lecheros estudiados está más afectada por la cantidad de animales infectados y susceptibles presentes en el rodeo (Abalos; Retamal, 2004) que por la carga animal. Es llamativo que otros estudios (Reilly; Courtenay, 2007) hayan demostrado que una carga animal alta (>3 bovinos/Ha) tiene un efecto protector, disminuyendo el riesgo de presentar TBB.

Es posible que los sistemas pastoriles de producción lechera de la región estudiada no difieran en los niveles de carga animal, ya que el punto de corte utilizado en este estudio (1,17 VT/Ha) coincidió con el valor medio obtenido en otro trabajo sobre 473 tambos de Argentina (Castignani *et al.*, 2005). Sin embargo, hubiera sido más preciso para determinar la densidad animal, medir la presión de pastoreo ya que la carga animal no tiene en cuenta las variaciones estacionales en disponibilidad forrajera (Viglizzo, 1981). La carga animal promedio es un estimador general anual de la tasa de contacto pero puede haber altas cargas instantáneas que favorecen la transmisión de la TBB por el estrecho contacto entre animales. Sin embargo, esto hubiera presentado limitaciones prácticas para registrar los datos de campo ya que es esperable una variación en la disponibilidad de forraje en los tambos estudiados.

## 5.7 Leche cruda

En contraposición a otros estudios (Evangelista; De Anda, 1996) no se detectó asociación entre el consumo de leche cruda y la presencia de reactores positivos a la PAC ( $p = 0.2286$ ). El suministro de leche fue una práctica frecuente en los tambos estudiados debido, entre otras cosas, a que proporciona todos los requerimientos nutritivos del ternero desde el nacimiento hasta el desleche a los 35 o 56 días de edad (Radostits *et al.*, 1985). La leche suministrada a los terneros en los tambos estudiados es recolectada del tanque de almacenamiento luego del ordeño y/o de recipientes individuales donde se separa la leche de vacas con diversos problemas sanitarios. En este estudio no se evaluó la calidad de la leche

suministrada a los terneros y esto debería ser tenido en cuenta en estudios posteriores.

Se ha podido identificar el ADN del *M. bovis* en la leche de vacas positivas y negativas a la PAC en rodeos con TBB endémica (Serrano-Moreno *et al.*, 2007) pero se debe tener en cuenta que esta es una técnica de elevada sensibilidad. Demostrar la presencia del *M. bovis* en leche no demuestra su capacidad infectiva ya que la dosis infectiva por vía gastrointestinal es mucho mas alta que por vía respiratoria (Goodchild; Clifton-Hadley, 2001).

En este trabajo no se tuvo en cuenta la aplicación de la PAC a las categorías menores de 6 meses aunque se registró que algunos establecimientos casos tenían reaccionantes positivos a la PAC en terneros de crianza artificial. Sin embargo, estos terneros pertenecían a un rodeo con TBB endémica y se ha descrito que la sensibilidad a la tuberculina podría transmitirse a los terneros que consumen leche a través de los linfocitos presentes en la misma. Estas células pueden sobrevivir en el intestino del recién nacido y penetrar las paredes intestinales (Tizard, 1995). Incluso, se ha publicado que los terneros que toman calostro de madres infectadas dan reacciones positivas sin estar infectados hasta por 3 semanas después de su nacimiento (Radostits *et al.*, 2002).

Es bien conocido que el consumo de leche cruda de origen bovino es un factor de riesgo para la infección extrapulmonar por *M. bovis* en humanos (Moda *et al.*, 1996; Cosivi *et al.*, 1998, Acha; Szyfres, 2003; Abalos; Retamal, 2004). Sin embargo, en este trabajo no hubo evidencia suficiente para demostrar su importancia epidemiológica en la ocurrencia de TBB en los rodeos lecheros estudiados.

## **5.8 Bancos de calostro**

El bajo porcentaje de establecimientos que realizaron la conservación del calostro (5 %) con aditivos químicos o congelado, nos indica que esta práctica de manejo es poco utilizada en los rodeos lecheros estudiados. Era posible pensar en una transmisión del *M. bovis* por calostro almacenado ya que el trabajo de Serrano-Moreno *et al.* (2008) demostró en un tambo con TBB endémica que el 62 % de las muestras de calostro fresco tenían evidencia de ADN del *M. bovis*. Si bien pocos establecimientos conservaban el calostro en este estudio, no se consideró el destino del producto de los primeros ordeños posparto. En algunos establecimientos visitados eran desviados a recipientes individuales (debido a que

alteran la composición de la leche comercializada) y terminaban siendo utilizados para la alimentación de los terneros. Según Radostits *et al.* (1985) la mayoría de las vacas en buen estado de salud producen una cantidad de calostro que excede los requerimientos del ternero durante un periodo de alimentación de tres días. El posible rol en la transmisión de la enfermedad que pueda tener el calostro fresco utilizado en terneras debería ser evaluado en futuros estudios.

## 5.9 Pasteurización

La pasteurización de la leche resultó ser una práctica de manejo poco extendida en los tambos estudiados, ya que sólo 1 rodeo utilizó este tratamiento. A pesar de estar bien demostrado que la pasteurización elimina al *M. bovis* de la leche (Grant *et al.*, 1996) el único establecimiento que utilizó un pasteurizador fue un establecimiento control mientras que ningún establecimiento caso utilizó este tratamiento. Sería deseable que, bajo las prevalencias de TBB observadas en los rodeos lecheros de este estudio, la utilización de pasteurizadores fuese una práctica más extendida para poder limitar la transmisión de la enfermedad en el rodeo.

## 5.10 Sustituto lácteo

En este trabajo, la proporción de establecimiento que suministraron sustituto a sus terneras fue mayor en los rodeos casos que en los rodeos controles (OR = 0.28). Este resultado puede deberse a que algunos establecimientos implementan medidas de manejo para disminuir la incidencia de la enfermedad cuando la misma es endémica en el rodeo, al igual que lo mencionado por Evangelista y De Anda (1996) en su trabajo de TBB en México. Si bien es conocido que alimentar a las terneras con sustitutos lácteos disminuye el riesgo de exposición a *Mycobacterium spp.* el riesgo de infección no se eliminaría completamente.

## 5.11 Ingreso de vaquillonas

La asociación significativa ( $p = 0.0223$ ) encontrada entre la ocurrencia de TBB y un ingreso mayor a 19 vaquillonas durante el periodo en estudio puede indicar que la enfermedad se introduce al rodeo con la introducción de hembras de reposición. Un resultado similar a este trabajo fue obtenido por Reilly y Courtenay (2007) quienes encontraron que el ingreso de bovinos ( $> 50$  comparado con  $< 50$  animales) en rodeos con un tamaño medio de 164 bovinos, fue un factor de riesgo para la ocurrencia de TBB de presentación esporádica. Sin embargo, estos autores

no diferenciaron entre las categorías ingresadas (terneros, vaquillonas y vacas) para cuantificar el ingreso de bovinos. A conclusiones similares llegó Jonhston *et al.* (2005) quien encontró que, el ingreso de animales provenientes de mercados o de la venta de otros establecimientos incrementaba el riesgo de aparición de TBB en rodeos bovinos. Aun así, el autor no demostró un aumento del riesgo debido a la cantidad ni a la categoría de bovino ingresada al establecimiento. Griffin *et al.* (1996) encontró en su trabajo que los rodeos casos tenían más ingresos de bovinos que los rodeos controles durante su período en estudio, pero llegó a la conclusión de que esta diferencia se debía principalmente a un mayor tamaño del rodeo y no al ingreso por sí mismo.

Algunos autores (Abalos; Retamal, 2004; Marangon *et al.*, 1998) coinciden en indicar que la introducción de animales es una de las formas más lógicas que existe para introducir la infección por *M. bovis* en un rodeo. La importancia del ingreso de vaquillonas en la ocurrencia de la enfermedad está reforzada por los hallazgos de Barlow *et al.* (1998) quien demostró a través de modelos de simulación que, en ausencia de reservorios silvestres, la introducción de bovinos es el principal factor de riesgo para la enfermedad. En este estudio el origen más frecuente de las vaquillonas ingresadas (43 %) fue de otros tambos lo que sugiere que probablemente sean animales que han estado en contacto con vacas de otros rodeos. En este trabajo sólo se registró el origen más frecuente de las vaquillonas ingresadas al rodeo lechero aunque un estudio realizado por Pfeiffer y Morris (1991) se determinaron todos los orígenes de los bovinos incorporados. Ellos encontraron un mayor riesgo de TBB en establecimientos que ingresaban animales provenientes de más de tres rodeos diferentes cuando los comparaban con los que no ingresaban animales.

Las vaquillonas que salen de la unidad epidemiológica pueden adquirir la infección de otros bovinos o desarrollar infecciones latentes adquiridas en etapas tempranas de su desarrollo. Es posible que los establecimientos controles recríen dentro del mismo predio debido a que el ingreso de bovinos en los establecimientos oficialmente libres está sujeto a regulación oficial (SAGPyA, 1999) debiendo notificar y realizar la prueba diagnóstica a cada bovino ingresado al rodeo. Sin embargo, no hay medidas que regularicen la introducción de animales en establecimientos en saneamiento.

## 5.12 Ingreso de vacas

Los establecimientos que ingresaron vacas durante el período en estudio fueron pocos, dos controles y seis casos, lo cual hace suponer que la mayoría de los establecimientos sólo ingresan vaquillonas en su primera preñez o de menor edad, si fuera necesario. Llama la atención que, a pesar de ser la TBB una enfermedad endémica en los rodeos argentinos (Kantor; Ritacco, 2006), sólo un pequeño porcentaje (1.6 %) realiza el test diagnóstico a esta categoría al momento del ingreso al rodeo lechero. Griffin *et al.* (1996) demostró que la categoría vaca tiene un mayor riesgo de presentar reacciones positivas al test tuberculínico en relación a los terneros, debido tal vez, a su mayor probabilidad de exposición al *M. bovis* por su mayor edad. Holmes *et al.* (1984) menciona que los rodeos lecheros que ingresan vacas lo hacen para aumentar el promedio del potencial genético de producción de su rodeo eliminando a vacas que producen poco y remplazándolas con vacas de alto valor genético. A pesar de que en este estudio las vacas no demostraron representar un riesgo, en un estudio realizado por Reilly y Courtenay (2007) se encontró que ingresar bovinos hembras con más de 24 meses de edad incrementaba el riesgo de presentar TBB en relación al ingreso bovinos de menor edad.

## 5.13 Ingreso de toros

La asociación encontrada entre la ocurrencia de TBB y el ingreso de más de dos toros ( $p = 0.0297$ ) sugiere que esta categoría bovina puede cumplir un rol en la introducción y/o diseminación de la enfermedad en los rodeos lecheros. Otros trabajos también han demostrado que el ingreso de toros representa un factor de riesgo para la TBB (Griffin citado por Phillips *et al.*, 2003) y explicaron que podría deberse a su mayor tasa de contacto con otros bovinos del rodeo.

El origen más frecuente de los toros fue de cabañas, lo que sugiere que son animales adquiridos con un cierto mérito genético para mejorar la composición del rodeo general. Un porcentaje menor ingresa toros provenientes de otros tambos, lo cual puede incrementar el riesgo de ingreso del *M. bovis* si provienen de rodeos en saneamiento. La importancia de esta posible vía de ingreso del *M. bovis* al rodeo se remarca por el hecho de que sólo el 10 % de los establecimientos que ingresan toros realizan la PAC al momento de incorporarlo al establecimiento.

Una posible explicación biológica para la asociación encontrada puede deberse a que los toros infectados con el *M. bovis* interaccionan con una mayor cantidad de

vacas que los demás bovinos integrantes del plantel, debido a su condición de curiosidad y olfateo de las hembras. Aunque es poco frecuente, también podrían estar diseminando la enfermedad por contacto al montar vacas susceptibles y transmitir por semen el *M. bovis* (Kistermann; Torres, 2000).

#### 5.14 Análisis múltiple de los factores

El modelo de regresión logística múltiple enfatiza el rol de los días al desmadre y el ingreso de vaquillonas en el riesgo de ocurrencia de TBB en rodeos lecheros. La falta de interacción entre el ingreso de toros y de vaquillonas ( $p = 0.0866$ ) nos indica que el manejo de los mismos es independiente en los establecimientos evaluados. El motivo por el cual el ingreso de toros no fue significativo ( $p = 0.1455$ ) en el análisis múltiple, puede ser debido a su menor importancia relativa con respecto al ingreso de vaquillonas en el rodeo lechero.

Al ajustar el modelo de regresión por la superficie destinada a la recría se pierde el efecto del factor ingreso de vaquillonas como variable predictora de la ocurrencia de TBB ( $P = 0.2186$ ). Aun así, el factor días al destete siguió siendo significativo luego de ajustar por dicho factor, lo cual puede deberse a que son dos practicas de manejo diferente. Esto nos indica que, la causa de un mayor ingreso de vaquillonas en los establecimientos casos puede deberse a un tercer factor, que sería una menor superficie de recría dentro del predio. Es posible que el mayor ingreso de vaquillonas en los establecimientos casos se deba a que se alquilan tierras para el pastoreo de sus vaquillonas por uno o dos años de su vida para no reducir la capacidad del tambo para la producción de leche, en concordancia a lo descrito por Holmes *et al.* (1984). Asimismo, estas aseveraciones nos permiten descartar que el ingreso de vaquillonas esté confundido con la enfermedad, debido a que los establecimientos casos podrían ingresar más vaquillonas debido a que eliminan más bovinos por ser positivos a la PAC.

Es destacable como se afectó el factor días al destete ( $P = 0,9406$ ) cuando fue ajustado por el agrupamiento de los establecimientos casos. Esto puede sugerir que el factor no esté relacionado a la transmisión de la TBB y que fuese la cercanía espacial de los establecimientos casos lo que explicaría la prevalencia observada. Si bien es conocido que, la TBB es una enfermedad con un bajo coeficiente de transmisión (Perez *et al.*, 2002a), los establecimientos cercanos pueden compartir medidas de manejo que faciliten la presentación endémica de la enfermedad. Aunque también podría ser que este factor si es importante en la transmisión de la

TBB, y el agrupamiento se deba a que esta práctica de manejo sea común en la zona permitiendo una persistencia de la infección a nivel rodeo. El factor ingreso de vaquillonas perdió significancia ( $P = 0.07$ ) en forma marginal, aunque su OR aumento en un 25 %. Es posible que la modificación de este factor pueda deberse a un  $n$  bajo más que, al efecto del agrupamiento de los casos. También puede deberse a causas como las sugeridas por Perez *et al.* (2002a), cuando menciona que, los rodeos localizados dentro de determinados departamentos pueden compartir factores ecosistémicos o de manejo que incrementa el riesgo de infección endémica por *M. Bovis*.

Como la TBB es una enfermedad que esta bajo un programa de erradicación en convenio con las empresas lácteas, es posible que los acuerdos realizados por las mismas, haya sido desigual sobre sus áreas de influencia. Esto puede ser uno de los motivos por el cual, el análisis espacial detecta un agrupamiento en forma significativa ( $p = 0.001$ ). Sin embargo, el agrupamiento de los casos también puede ser el resultado del método de muestreo no probabilístico utilizado lo cual podría estar sesgando el resultado del análisis espacial.

### **5.15 Consideraciones generales**

Este trabajo fue realizado en importantes cuencas lecheras de Argentina, sin embargo, no fue evaluado el rol que podría tener la presencia de rodeos lecheros aledaños con reactores positivos a la PAC, como sí lo han hecho otros estudios (Griffin *et al.*, 1996; Denny; Wilesmith, 1999). Los trabajos que analizaron el estado sanitario de los rodeos vecinos encontraron un mayor riesgo de TBB cuando los establecimientos aledaños estuvieron bajo control del movimiento de bovinos por la presencia de reactores positivos al test tuberculínico. De la forma en que se diseñó nuestro trabajo, hubiera sido muy difícil obtener el estado sanitario de los rodeos contiguos. En un futuro estudio, el conocimiento del estado sanitario de los rodeos lecheros aledaños permitiría encontrar la importancia que tiene el contacto entre animales a través de los alambrados periféricos del predio en la ocurrencia de TBB.

Tampoco se tuvo en cuenta el efecto que podría tener la presencia de fauna silvestre en la ocurrencia de TBB en los establecimientos estudiados. Este factor hubiera sido muy complicado de obtener en forma precisa a nivel práctico, pero podría haber sido importante, dado los antecedentes de aislamiento en animales silvestres de las provincias de Córdoba y Santa Fe (Abdala *et al.*, 2006).

Haber trabajado con casos prevalentes en lugar de casos incidentes no nos permitió diferenciar si los factores de riesgo identificados están asociados a la ocurrencia o a la persistencia de TBB en el rodeo lechero. Además, como es afirmado por Dohoo *et al.* (2003), al desconocer el momento en que comenzaron las reacciones positivas a la tuberculina en los establecimientos casos, no podemos demostrar una relación temporal de causa-efecto para los factores de riesgo identificados.

Aunque la selección de los establecimientos casos y controles no fue realizada en forma aleatoria como en otros estudios (Marangon *et al.*, 1998; Denny; Wilesmith, 1999), los factores de riesgo identificados en este trabajo nos acercan a una comprensión mayor de la epidemiología de la TBB en los rodeos lecheros.

La identificación de estos factores de riesgo de TBB nos permite identificar puntos críticos de control que permitan reducir el riesgo de transmisión de la enfermedad en rodeos lecheros de Argentina.

## 6 CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en el presente trabajo indican que:

- Los rodeos casos realizaron el desmadre de las terneras a una edad superior a los establecimientos controles. Esto sugiere una transmisión del *M. bovis* de la madre a la ternera a través de aerosoles y/o por el calostro.
- Los rodeos casos ingresaron un mayor número de toros que los rodeos controles. Esto sugiere que los toros podrían introducir y/o difundir la TBB en el rodeo lechero. El ingreso de toros fue relativamente menos importante que el ingreso de vaquillonas en la ocurrencia de TBB.
- Los rodeos casos ingresaron un mayor número de vaquillonas que los rodeos controles. Esto sugiere un ingreso externo del *M. bovis* al rodeo lechero a través de la incorporación de vaquillonas de reemplazo que podrían estar afectadas por el *M. bovis*.
- Los rodeos controles tuvieron una mayor superficie destinada a la recría, lo que implica que las terneras se crían dentro del establecimiento. Esto hace que se reduzca el ingreso de vaquillonas y disminuya el riesgo de ocurrencia de TBB.

La identificación de estos factores de riesgo permite proponer algunos puntos de control a tener en cuenta en rodeos lecheros para evitar la introducción y/o diseminación de la enfermedad en el rodeo. Algunas recomendaciones que surgen son:

- Manejo nutricional: Reducir la cantidad de tiempo que las terneras pasan junto a la vaca luego del parto disminuiría el riesgo de infección de las terneras, que luego son utilizadas para reemplazo de las vacas del rodeo o para la venta a otros rodeos.

- Manejo de los reemplazos: a) Mantener los rodeos lecheros cerrados para no incorporar vaquillonas y toros que provienen de otros rodeos b) Reducir al mínimo la incorporación de vaquillonas de origen externo al rodeo lechero. c) La utilización de inseminación artificial en todo el rodeo evitaría el ingreso y la utilización de los toros de origen externo al rodeo lechero.
- Manejo sanitario: Es fundamental que todos los animales ingresados al rodeo lechero provengan de rodeos libres de TBB y tengan la certificación de resultados negativo a la PAC. Se debe aplicar la PAC a todo bovino mayor de 6 meses que ingresa al establecimiento para minimizar el riesgo de introducción externa del *M. bovis*. Un área de cuarentena dentro del predio permitiría a los animales recuperarse del estrés del transporte e incrementaría la eficiencia del test diagnóstico.

## 7 BIBLIOGRAFÍA

- ABALOS, P. RETAMAL, P. 2004. Tuberculosis: ¿una zoonosis re-emergente? Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz. 23 (2): 583-594.
- ABDALA, A., TARABLA, H. 2004. Prevalencia de tuberculosis bovina en el departamento de San Justo (Córdoba) basada en las observaciones en frigoríficos. Veterinaria Argentina 21 (201): 21-23.
- ABDALA, A., TARABLA, H., GARBACCIO, S., JORGE, M., TRAVERSA, M., ZUMARRAGA, M., CATALDI, A. 2006. Aislamiento de *Mycobacterium bovis* en fauna silvestre. Anuario INTA Rafaela: 23-24.
- ACHA, P.N., SZYFRES, B. 2003. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 3 ed. v. III. pp. 266-283.
- ALBERBETHY, D.A., DENNY, G.O., MENZIES, F.D., McGUCKIAN, P., HONHOLD, N., ROBERTS, A.R. 2006. The Northern Ireland program for the control and eradication of *Mycobacterium bovis*. Veterinary Microbiology 112: 231-237.
- AMANFU, W. 2006. The situation of tuberculosis and tuberculosis control in animals of economic interest. Tuberculosis 86: 330-335.
- ANDREO, N. 2008. Cría y recría del ganado lechero. 21º Curso internacional de lechería para profesionales de América Latina. Temas claves para una producción de leche bovina eficiente y de calidad. INTA Rafaela. pp. 169-173.
- ANDREO, N.A., COMERON, E.A., SHILDER, E., LESSER, A. 1996. Índices para la evaluación de los establecimientos lecheros. Temas de producción lechera. INTA Rafaela. Publicación miscelánea Nº 81. pp. 119-125.
- BARLOW, N.D., KEAN, J.M., CALDWELL, N. P., RYAN, T. J. 1998. Modeling the regional dynamics and management of bovine tuberculosis in New Zealand cattle herds. Prev. Vet. Med. 36: 25-38.

- BARLOW, N.D., KEAN, J.M., HICKLING, G., LIVINGSTONE, P.G., ROBSON, A.B. 1997. A simulation model for the spread of bovine tuberculosis within New Zealand cattle herds. *Prev. Vet. Med.* 32: 57-75.
- BÉRGAMO, E., BERNARDELLI, A., CATALDI, A., MARTINEZ, VIVOT, M., SCHETTINO, D.M., SCHNEIDER, M., TORRES, P. 1997. Acreditación de Veterinarios. Cursos de capacitación. UNRC.139 p.
- BISANG, R., GUTMAN, G., CESA, V. 2003. Estudios sobre el sector agroalimentario, Componente B: Redes agroalimentarias. Tramas. B-2 Trama de lácteos en Argentina. 80 p.
- CASTIGNANI, H., ZEHNDER, R., GAMBUZZI, E., CHIMICZ, J. 2005. Caracterización de los sistemas de producción lecheros argentinos, y de sus principales cuencas. Asociación Argentina de Economía Agraria. INTA Rafaela 16 p.
- CHAMBERS, M.A., WILLIAMS, A., GABIER-WIDÉN, D., WHELAN, A., HUGHES, C., HALL, G., LEVER, M.S., MARSH, P.D., HEWINSON, G. 2001. A guinea pig model of low-dose *Mycobacterium bovis* aerogenic infection. *Veterinary Microbiology* 80: 312-226.
- CHIMICZ, J. 2008. Los sistemas lecheros de la Argentina. Una síntesis de su perfil productivo. 21º Curso internacional de lechería para profesionales de América Latina. Temas claves para una producción de leche bovina eficiente y de calidad. INTA Rafaela. pp. 260-266
- CHRISTENSEN, J., GARDNER, I. A. 2000. Herd-level interpretation of test results for epidemiologic studies of animal diseases. *Prev. Vet. Med.* 45: 83-106.
- CNA, 2002. Existencia de ganado bovino, por tipo de rodeo. Provincias seleccionadas. [en línea] <<http://www.indec.mecon.gov.ar/>> [consulta: 19 abril 2008].
- COLEMAN, J.D., COOKE, M.M. 2001. *Mycobacterium bovis* infection in wildlife in New Zealand. *Tuberculosis* 81: 191-202.

- COLLINS, D.M., RADFORD, A.J., DE LISLE, G.W., BILLMAN-JACOB, H. 1994. Diagnosis and epidemiology of bovine tuberculosis using molecular biological approaches. *Veterinary Microbiology* 40: 83-94.
- COLLINS, J. 2006. Tuberculosis in cattle: Strategic planning for the future. *Veterinary Microbiology* 112: 369-381.
- COMISIÓN NACIONAL DE ZONOSIS. 1982. La tuberculosis bovina en la República Argentina. pp. 11-61.
- COSIVI, O., GRANGE, J.M., DABORN, C.J., RAVIGLIONE, M.C., FUJIKURA, T., COUSINS, D., ROBINSON, R.A., HUCHZERMEYER, H.F.A.K., KANTOR, I., MESLIN, F.X. 1998. Zoonotic tuberculosis due to *Mycobacterium bovis* in developing countries. *Emerging Infectious Diseases* 4 (1): 59-70.
- COSTELLO, E., DOHERTY, M.L., MONAGHAN, M.L., QUIGLEY, F.C., REILLY, P.F.O. 1998. A study of cattle-to-cattle transmission of *Mycobacterium bovis* infection. *The Veterinary Journal* 155: 245-250.
- DAILLOUX, M., LAURAIN, C., WEBER, R., HARTEMANN, P. 1999. Water and nontuberculous mycobacteria. *Water Research* 33: 2219-2228.
- DE DIEGO, A. 1974. Guía para el estudio de las enfermedades infecciosas de los animales (aves y mamíferos). *Farro*. Argentina. pp 650.
- DE LA RUA-DOMENECH, R., GOODCHILD, A.T., VORDERMEIER, H.M., HEWINSON, R.G., CHRISTIANSEN, K.H., CLIFTON-HADLEY, R.S. 2006. Ante mortem diagnosis of tuberculosis in cattle: A review of the tuberculin test,  $\gamma$ -interferon assay and other ancillary diagnostic techniques. *Research in Veterinary Science* 81: 190-210.
- DEAN, G.S., RODEES, S.G., COAD, M., WHELAM, A.O., COCKLE, P.J., CLIFFORD, D.J., HEWINSON, R.G. and VORDERMEIER, M. 2005. Minimum infective dose of *Mycobacterium bovis* in cattle. *Infection and Immunity*. 73 (10): 6467-6471.

- DELAHAY, R.J., CHEESEMAN, C.L., CLIFTON-HADLEY, R.S. 2001. Wildlife disease reservoirs: the epidemiology of *Mycobacterium bovis* infection in the European badger (*meles meles*) and other British mammals. *Tuberculosis* 81: 43-49.
- DENNY, G.O., WILESMITH, J.W. Bovine tuberculosis in Northern Ireland a case-control study of herd risk factor. 1999. *Veterinary Record* 144: 305-310.
- DOHOO, I., MARTIN, W., STRYHN, H. 2003. Case-control studies. In: *Veterinary epidemiology research*. Transcontinental Prince Edward Island. Canadá. pp. 163-174.
- FRASER, R.C., BERGERON, J.A., MAYS, A., AIELLO, S. 1993. *El manual Merck de veterinaria*. 4 ed. pp. 424-425.
- FUJIMURA LEITE, C.Q., ANNO, I. S., ANDRADE LEITE, S.R., ROXO, E., MORLOCK, G. P., COOKSEY, R. C. 2003. Isolation and identification of mycobacteria from livestock specimens and milk obtained in Brazil. *Memorias Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*. 98 (3): 319-323.
- GOODCHILD, A.V., CLIFTON-HADLEY, R.S. 2001. Cattle-to-cattle transmission of *Mycobacterium bovis*. *Tuberculosis* 81: 23-41.
- GRANT, I.R., BALL, H.J., ROWE, M.T. 1996. Thermal inactivation of several *Mycobacterium spp.* in milk by pasteurization. *Letters in Applied Microbiology* 22: 253-256.
- GRIFFIN, J., MARTIN, S., THORBURN, M., EVES, J., HAMMOND, R. 1996. A case-control study on the association of selected risk factor with the occurrence of bovine tuberculosis in the Republic of Ireland. *Prev. Vet. Med.* 27: 217-229.
- HABICH, G.E., BROADBENT, D.W., NOGUES, E.M., SPATH, E.J.A., GUGLIELMONE, A.A., GONZALEZ DE RIOS, L. 1977. Estudios de sanidad animal en el noroeste Argentino. Buenos Aires. *Gaceta Veterinaria* 39: 648-656.

- HOLMES, C.W., WILSON, G.F., MACKENZIE, D.D.S., FLUCK, D.S., BROOKES, I.M., DAVEY, A.W.F. 1984. Feeding and management of heifer replacements. In: Milk production from pasture. Butterworths. New Zealand. pp. 47-56.
  
- IUALT (Internacional Union against Tuberculosis and lung disease). 2003. La tuberculosis en el mundo. [en línea] <[www.iualt.org](http://www.iualt.org)> [consulta: 10 Febrero 2009].
  
- JOHNSTON, W.T., GETTINBY, G., COX, D.R., DONNELLY, C.A., BOURNE, J., CLIFTON-HANDLEY, D.R., LE FEVRE, A.M., McINERNEY, J.P., MITCHELL, A., MORRISON, W.I., WOODROFFE, R. 2005. Herd-level risk factor associated with tuberculosis breakdowns among cattle herds in England before the 2001 foot-and-mouth disease epidemic. *Biology Letters* 1: 53-56.
  
- KANEENE, J.B., PFEIFFER, D. 2006. Epidemiology of *Mycobacterium bovis*. In: Thoen C.O., Steele J.H., Gilsdorf M. J. *Mycobacterium bovis* infection in animals and humans. Blackwell Publishing Professional. Estados Unidos de América. 2 ed. pp. 34-48.
  
- KANTOR, I. N., DE LA VEGA, E., BERNARDELLI, A. 1984. Infección por *Mycobacterium bovis* en liebres en la Provincia de Buenos Aires. *Rev. Arg. Med. Vet.* 65: 268.
  
- KANTOR, I. N., RITACCO, V. 1994. Bovine tuberculosis in Latin America and the Caribbean: current status, control and eradication programs. *Veterinary Microbiology* 40: 5-14.
  
- KANTOR, I. N., RITACCO, V. 2006. An update on bovine tuberculosis programmes in Latin American and Caribbean countries. *Veterinary Microbiology* 112: 111-118.
  
- KANTOR, I., 2000. Diagnóstico. En: Torres P. Actualización en Tuberculosis bovina. SENASA. Buenos Aires. pp. 12-15.

- KELMANSKY, D. 2006. Curso de regresión logística. Programa de actualización en estadística para ciencias de la salud. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 44 p.
- KISTERMANN, J.C., TORRES, P.M. 2000. Epidemiología de la tuberculosis bovina. En: Torres P. Actualización en Tuberculosis bovina. SENASA. Buenos Aires. pp. 39-48.
- KULLDORFF, M., NAGARWALLA, N. 1995. Spatial disease clusters: detection and inference. *Stat. Med.* 14: 799-810.
- LILENBAUM, W., RIBEIRO, E.R., SOUZA, G.N., 1999. Evaluation of an ELISA-PPD for the diagnosis of bovine tuberculosis in field trials in Brazil. *Research in Veterinary Science* 66: 191-195.
- MANTEL, N. Y HAENZEL, W. 1984. Aspectos estadísticos del análisis de datos de estudios retrospectivos de enfermedades. En: Buck C. El desafío de la epidemiología. Problemas y lecturas relacionadas. Organización Panamericana de la Salud. España. pp. 575-595.
- MARANGON, S., MARTINI, M., POZZA, M., NETO, J. 1998. A case-control study on bovine tuberculosis in the Veneto Region (Italy). *Prev. Vet. Med.* 34: 87-95.
- MARTIN, S.W., MEEK, A.H., WILLEBERG, P. 1997. Encuestas y estudios analíticos de observación. En su: *Epidemiología Veterinaria*. Acribia. España. pp 181-190.
- MARTÍNEZ VIVOT, M. 2000. Patogenia. En: Torres P. Actualización en tuberculosis bovina. SENASA. Buenos Aires. pp. 20-22.
- MATTHIAS, D.1980. Infecciones por micobacterias: Tuberculosis. En: Beer, J. *Enfermedades infecciosas de los animales domésticos*. T. 2. Acribia. España. pp. 229-252.
- MENZIES, F.D., NELLY, S.D. 2000. Cattle-to-cattle transmission of bovine tuberculosis. *The Veterinary Journal*, 160: 92-106.

- MODA, G., DABORN, C.J., GRANGE, J.M. COSIVI, O. 1996. The zoonotic importance of *Mycobacterium bovis*. *Tubercle and Lung Disease* 77: 103-108.
- MORRIS, R.S., PFEIFFER, D.U., JACKSON, R. 1994. The Epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections. *Veterinary Microbiology* 40: 153-177.
- NEILL, S.D., BRYSON, D.G., POLLOCK, J.M. 2001. Pathogenesis of tuberculosis in cattle. *Tuberculosis* 81: 79-86.
- O'REILLY, L. M., DABORN, C. J. 1995. The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections in animals and man: a review. *Tubercule and Lung disease*. 76: 1-46.
- OIE. 2008. Tuberculosis bovina. Manual de diagnóstico y de las vacunas para animales terrestres. [en línea]  
<[http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A\\_summry.htm](http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A_summry.htm)> [consulta: 17 enero 2009].
- OLOYA, J., MUMA, J.B., OPUDA-ASIBO, J., DJØNNE, B., KAZWALA, R., SKJERVE, E. 2007. Risk factor for herd-level bovine-tuberculosis seropositivity in transhumant cattle in Uganda. *Prev. Vet. Med.* 80: 318-329.
- ORIANI, D.S. 2001. Micobacterias no tuberculosas aisladas de suelos de la provincia de La Pampa, su comportamiento frente a agentes químicos y en modelos animales. Tesis *Magíster* en Ciencias Agrarias. Universidad Nacional del Sur. La Pampa, Argentina. 162 p.
- PARDO, R. B., LANGONI, H., MENDOCA, L.J.P., CHI, K.D.. 2001. Isolation of *Mycobacterium spp.* in milk from cows suspected or positive to tuberculosis. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science* 38: 284-287.
- PEREZ, A. M., WARD, M. P., CHARMANDARIÁN, A., RITACCO, V. 2002 a. Simulation model of within-herd transmission of bovine tuberculosis in Argentine dairy herds. *Prev. Vet. Med.* 54: 361-372.
- PEREZ, A.M., WARD, M.P., TORRES, P., RITACCO, V. 2002 b. Use of spatial statistics and monitoring data to identify clustering of bovine tuberculosis in Argentina. *Prev. Vet. Med.* 56: 63-74.

- PFEIFFER, D.U., MORRIS, R.S. 1991. Tuberculosis Breakdown in Cattle herds in New Zealand. A case-control Study. In proceedings of a Symposium on Tuberculosis. Publication N° 132, Veterinary Continuing Education, Massey University, Palmerston North, New Zealand: 277-290.
- PHILLIPS, C.J.C., FOSTER, C.R.W., MORRIS, P.A., TEVERSON, R. 2000. The role of cattle husbandry in the development of a sustainable policy to control *M. bovis* infection in cattle. Report to the Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. 63 p.
- PHILLIPS, C.J.C., FOSTER, C.R.W., MORRIS, P.A., TEVERSON, R. 2003. The transmission of *Mycobacterium bovis* infection to cattle. Research in Veterinary Science 74: 1-15.
- POLLOCK, J. M., McNAIR, J., WELSH, D., GIRVIN, R. M., KENNEDY, E., MACKIE, D. P., NEILL, S. D. 2001. Immune responses in bovine tuberculosis. Tuberculosis 81: 103-107.
- RADOSTITS, O.M., BLODD, D.C. 1985. Sanidad del Ganado. Manejo sanitario y productivo del ganado. Editorial Hemisferio Sur. Montevideo, Uruguay. 497 p.
- RADOSTITS, O.M., GAY, C.C., BLOOD, D.C., HINCHCLIFF, K.W. 2002. Enfermedades causadas por bacterias-IV. En su: Medicina Veterinaria: tratado de las enfermedades del Ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino. McGraw-Hill. España. 9 ed. pp. 1075-1105.
- REILLY, L.A., COURTENAY, O. 2007. Husbandry practices, badger sett density and habitat composition as risk factor for transient and persistent bovine tuberculosis on UK cattle farms. Prev. Vet. Med. 80: 129-142.
- RENTERÍA EVANGELISTA, T. B., HERNÁNDEZ DE ANDA, J. 1996. Tuberculosis in dairy calves: risk of *Mycobacterium spp.* exposure associated with management of colostrum and milk. Prev. Vet. Med. 27: 23-27.
- REY MORENO, C. 2000. Tuberculosis bovina: Anatomía patológica. En: Torres P. Actualización en Tuberculosis bovina. SENASA. Buenos Aires. pp. 26-38.

- SAGPyA. 1996 (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación). Dirección de lechería, Argentina, Cuencas lácteas argentinas. [en línea]. <<http://www.alimentosargentinos.gov.ar/0-3/lacteos>> [consulta: 23 noviembre 2008].
- SAGPyA. 1999. (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación). Dirección de Sanidad Animal, Argentina, Plan Nacional de Control y Erradicación de la Tuberculosis Bovina. Resolución N°115/99 SENASA-SAGPyA.
- SCHLESSELMAN, J.J. 1974. Sample size requirements in cohort and case-control studies of disease. *American journal of Epidemiology* 99 (6): 381-384.
- SCHWABE, C.W., RIEMANN, H.P., FRANTI, C.E. 1977. Basic concepts and methods. In: *Epidemiology in Veterinary practice*. Lea & Febiger. Estados Unidos de América. pp 12-21.
- SERRANO-MORENO, B.A., ROMERO, T.A., ARRIAGA, C., TORRES, R.A., PEREIRA-SUAREZ, A.L., GARCÍA-SALAZAR, J.A., ESTRADA-CHAVEZ, C. 2008. High frequency *Mycobacterium bovis* DNA in calostras from tuberculous cattle detected by nested PCR. *Zoonoses and Public Health* 55: 258-266.
- SORDILLO, L.M. 2005. Factors affecting mammary gland immunity and mastitis susceptibility. *Livestock Production Science* 98: 89-99.
- SPATH, E.J.A., MANGOLD, A.J. 1986. Algunas características de producción y sanidad de rodeos de ganado bovino de carne en el sudeste de Salta y norte de Tucumán. *Rev. Arg. Prod. Animal*. 6 (1-2): 101-112.
- TAVERNA, M.A. 2007. Factores de riesgo de mastitis asociados a la rutina de ordeño y al funcionamiento de la ordeñadora. En: INTA. *Manual de referencias técnicas para el logro de leche de calidad*. INTA. Argentina. 3 ed. pp. 105-113.
- THRUSFIELD, M. 1997. Observational studies. In: *Veterinary epidemiology*. Blackwell Science. Inglaterra. 2 ed. pp. 220-237.

- TIZARD, I. 1995. Hipersensibilidad mediada por células (tipo IV). En su: Inmunología Veterinaria. Interamericana. McGraw Hill. México. 4 ed pp. 290-298.
- TORRES, P.M. 2007. Situación de la tuberculosis bovina en la república Argentina. [en línea]. <<http://www.senasa.gov.ar/Archivos/File/File1013-tuberculosis.pdf>> [consulta: 21 junio 2008].
- VIGLIZZO, E. 1981. La carga animal. En su: Dinámica de los sistemas pastoriles de producción lechera. Hemisferio sur. Argentina. pp. 25-32.
- WEBE, M.B., CIVITARESI, H.M. 2001. Caracterización general de los tambos de la región. En su: La producción láctea regional y la reestructuración en el sistema agroalimentario. Universidad Nacional de Río Cuarto. Argentina. pp. 61-78.
- WIN EPISCOPE 2.0. 2000. [en línea]  
<[http://infecepi.unizar.es/pages/ratio/soft\\_uk](http://infecepi.unizar.es/pages/ratio/soft_uk)> [consulta: 21 marzo 2008].
- WOOD, P.R., JONES, S.L. 2001. BOVIGAM™: an in vitro cellular diagnostic test for bovine tuberculosis. Tuberculosis 81: 147-155.

## 8 APÉNDICE

**Cuadro I: Encuesta utilizada durante el trabajo de campo.**

																									
IDENTIFICACION DE FACTORES DE RIESGO EN TUBERCULOSIS BOVINA																									
ID:	Establecimiento:	Propietario:																							
Localidad:	Departamento:	Provincia:																							
<u>Tipo de establecimiento</u> Tambo      Mixto		<u>Manejo de las terneras</u> Días al destete: Alimentación con leche: Si/No Alimentación con sustituto lácteo: Si/No Bancos de calostro: Si/No Pasteurización de la leche: Si/No																							
<u>Número de bovinos:</u> Vacas en ordeño: Vacas seca: Recría: Toros: N° Rodeos Ordeño: <u>Superficies</u> Superficie vaca total: Superficie recría: % Sup. Pasturas: <u>Prod. diaria leche</u> Actual: Min.:                  Max.:		<u>Ingreso de bovinos</u> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th></th> <th>Cant.?</th> <th>Origen?</th> <th>PAC ingreso</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Vaquillonas</td> <td>Si/No</td> <td>_____</td> <td>_____</td> <td>Si/No</td> </tr> <tr> <td>Vacas</td> <td>Si/No</td> <td>_____</td> <td>_____</td> <td>Si/No</td> </tr> <tr> <td>Toros</td> <td>Si/No</td> <td>_____</td> <td>_____</td> <td>Si/No</td> </tr> </tbody> </table>						Cant.?	Origen?	PAC ingreso	Vaquillonas	Si/No	_____	_____	Si/No	Vacas	Si/No	_____	_____	Si/No	Toros	Si/No	_____	_____	Si/No
		Cant.?	Origen?	PAC ingreso																					
Vaquillonas	Si/No	_____	_____	Si/No																					
Vacas	Si/No	_____	_____	Si/No																					
Toros	Si/No	_____	_____	Si/No																					
<u>Datos de Sanidad</u>	PAC	Mes	Año	POS	TOTAL																				
Veterinario:	1	_____	_____	_____	_____																				
TEL:	2	_____	_____	_____	_____																				
E-mail:	3	_____	_____	_____	_____																				
	4	_____	_____	_____	_____																				
Comentarios:																									