

Encuesta serológica sobre Brucelosis bovina en ganado de la provincia de Río Negro, Argentina, en el área de vacunación antiaftosa.

Carlos Robles⁽¹⁾ Alberto Tiberio⁽²⁾, Marina Kugler⁽³⁾

RESUMEN

Se realizó un estudio de prevalencia de Brucelosis bovina en los departamentos del Noreste de la provincia de Río Negro. Se procesaron 1774 muestras de suero pertenecientes a 182 establecimientos. La serología diagnóstica consistió en BPA como prueba tamiz y Seroaglutinación lenta en Tubo y Seroaglutinación lenta en tubo con 2-mercaptoetanol como pruebas confirmatorias. El 21.4% de los establecimientos resultaron positivos con prevalencias a nivel de predio que variaron entre un 10% a un 40%. El 10.5% de los sueros procesados resultaron positivos a BPA pero solo el 3.4% del total resultaron positivas y el 0.3 sospechosas a las pruebas confirmatorias. Los resultados obtenidos indican que sería necesario reconsiderar las medidas de control vigentes.

Palabras clave: Patagonia – Bovinos – Brucelosis – Prevalencia - Epidemiología

SUMMARY

Serological survey on Bovine Brucellosis in cattle from Río Negro province, in Foot and Mouth Disease vaccination area

A Bovine Brucellosis prevalence study was carried out in the nor-east departments of Río Negro province. One thousand seven hundred and seventy four sera samples belonging to 182 farms were obtained. BPA test was used as screening test and SAT and 2-ME as confirmatory tests. The 21.4% of the farms were positive with prevalences ranging from 10 to 40%. The 10.5% of the processed sera were positive to BPA. However 3.4% regarding the total sera processed were positive and 0.3% suspected to confirmatory tests. The control measures applied should be reconsidered in view of the results obtained.

Keywords: Patagonia – Cattle- Brucellosis - Prevalence - Epidemiology

(1) Méd. Vet., M.Sc. Grupo Salud Animal - INTA Bariloche. CC: 277 (8400) Bariloche.
e-mail: robles.carlos@Inta.gob.ar

(2) Méd. Vet. - Dirección de Ganadería Prov. de Río Negro, Viedma

(3) Méd. Vet. - Laboratorio Brucelosis. Funbapa, Viedma

INTRODUCCIÓN

La Brucelosis bovina es una enfermedad infecciosa crónica de distribución mundial causada por una bacteria denominada *Brucella abortus* (Acha y Szyfres, 1986; Radostitis et al., 1994).

La enfermedad se caracteriza clínicamente por aborto, retención de placenta y merma en la producción de leche en hembras y orquitis, epididimitis, vesiculitis y semen de mala calidad en machos. Además de las pérdidas que genera al productor por una menor eficiencia productiva y reproductiva, constituye una traba para el comercio nacional e internacional de animales y sus subproductos. Finalmente hay que recordar que la Brucelosis es considerada una de las zoonosis de mayor impacto en el mundo (Acha y Szyfres, 1986; Enright, 1990; Radostitis et al., 1994).

Los primeros indicios de la existencia de la brucelosis en la provincia de Río Negro surgen de la información estadística gubernamental nacional recopilada entre los años 1949-1958 donde sobre 95 muestras analizadas de animales de la provincia 8 (8.4%) resultaron reaccionantes a la seroaglutinación para *Brucella* (*Anónimo, Primera Reunión Argentina de Ciencias Veterinarias*).

En 1980 el SENASA muestrea 2059 animales del departamento de Pichi Mahuida y obtiene un 2.47 % de reactores positivos y un 3.89 % de sospechosos (Selsa, 1980).

En 1986, a fin de establecer la posible presencia de las enfermedades más comunes de la reproducción en establecimientos demostradores del área ecológica de Monte de la provincia de Río Negro, el INTA Bariloche muestreó el total de los bovinos adultos en 4 establecimientos de los departamentos de Adolfo Alsina, Avellaneda, Conesa y Pichi Mahuida. Todos los establecimientos resultaron positivos a la serología de *Brucella* consistente en las pruebas de Rosa de Bengala y 2-Mercaptoetanol, con prevalencias que variaron entre 3.48% y 9.74% (Suárez et al., 1988).

En 1987 el SENASA y la provincia de Río Negro realizan un muestreo en 78 establecimientos correspondientes a la zona ecológica de Monte Rionegrino y Patagones, recolectándose un total de 755 muestras. El 16.67% de los establecimientos resultaron positivos. Las prevalencias a nivel departamental fueron para Adolfo Alsina 1.89%, Avellaneda 1.38%, General Conesa 0.63%, Patagones 4.91% y Pichi Mahuida 5.50% obteniéndose una prevalencia media estimada para el área en estudio del 2.78%. Continuando con el estudio, realizan un relevamiento complementario en 89 establecimientos de los departamentos de General Roca y El Cuy que habían quedado sin muestrear. Procesaron 278 sueros de los cuales el 1.8% resultaron sospechosos a las pruebas de Huddleson y Rosa de Bengala, no registrándose sueros positivos (Bengoechea, 1987).

En 1995 sobre 798 muestras de suero obtenidas de 41 establecimientos del Departamento de Pilcaniyeu, 8 (1.0%) muestras correspondientes a 4 (9.8%) establecimientos resultaron positivas al BPA. Posteriormente las 8 muestras resultaron negativas a las pruebas complementarias y al Elisa indirecto (Layana et al., 1997).

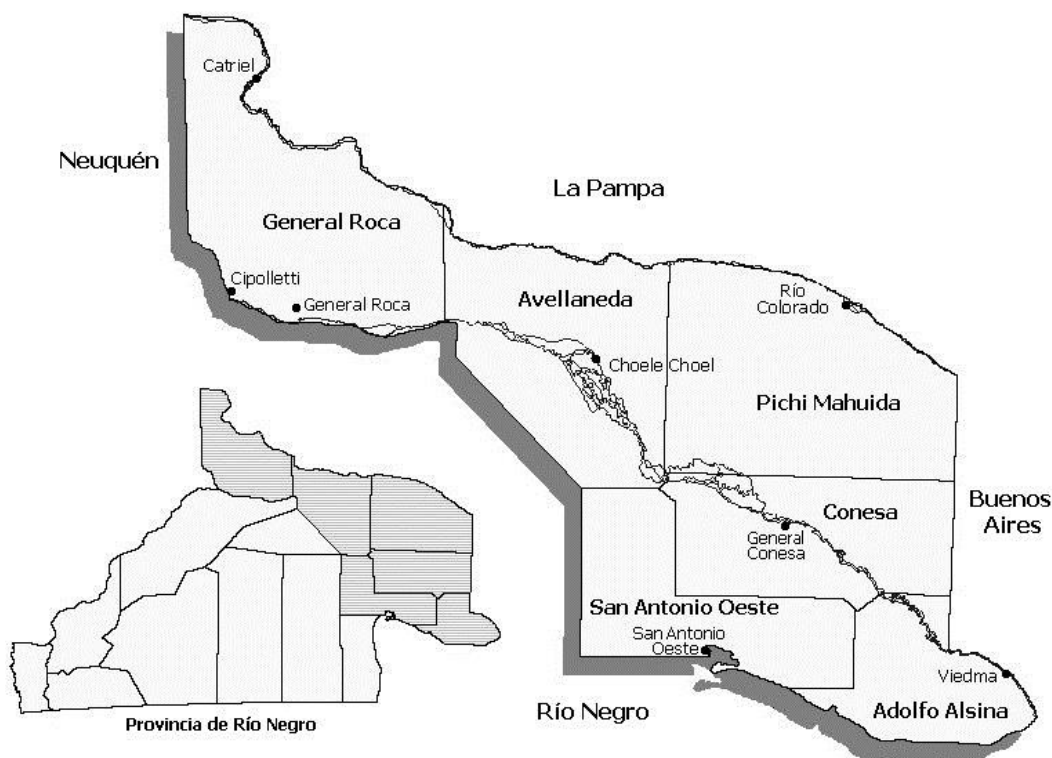
Durante el año 2002, en vista de la falta de información actualizada, se decidió aprovechar la campaña de vacunación antiaftosa en la zona nor-este de la provincia de Río Negro para realizar un estudio con la finalidad de estimar la distribución y la prevalencia serológica de la Brucelosis bovina en el área de vacunación antiaftosa de la provincia.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Descripción del área en estudio

El área en estudio comprende los departamentos de General Roca, Adolfo Alsina, Pichi Mahuida, General Conesa, zona norte de San Antonio Oeste y zona norte de Avellaneda y están sujetos a vacunación antiaftosa. Dicha área se encuentra demarcada al norte y al sur por dos barreras naturales como son los ríos Barrancas y Colorado por el norte y el río Negro por el sur (Mapa N°1). Con excepción del IDEVI, es un área de secano dedicada mayoritariamente a la cría de ganado bovino en condiciones extensivas, lo cual sumado a la escasez de infraestructura básica como son los alambrados, dificulta el logro de un manejo racional de los rodeos.

Mapa N° 1: Mapa de la Provincia de Río Negro con amplificación del área donde se efectuó el estudio.



En la Tabla N° 1 puede apreciarse la cantidad de establecimientos ganaderos y el total de bovinos para cada departamento provincial del área en estudio.

Tabla N°1: Cantidad de establecimientos y cabezas de ganado bovino según departamentos en el área bajo estudio. Fuente: Senasa y Entes de vacunación, 2002.

Departamentos	Cantidad establec.	Vacas	Vaquillonas	Total Bovinos
A. Alsina secano	419	60019	10884	113860
A. Alsina Idevi	311	4137	2832	13760
Pichi Mahuida	287	78407	16328	141980
General Conesa	521	44706	7127	89873
General Roca	104	12357	2224	19142
Norte de San Antonio	39	5564	575	7006
Norte de Avellaneda	621	34452	6012	75816
Totales	2302	239642	45982	461437

Por ser IDEVI un área de manejo intensivo bajo riego dentro del departamento de Adolfo Alsina, se la consideró diferente al resto y por ello su muestreo se gestiona como área diferenciada.

2. Determinación del tamaño de muestra

Para la determinación del tamaño muestral se utilizó el programa Win Episcopo Ver 2.0 (De Blas et al., 2000).

a) para determinar la cantidad de establecimientos se usaron en los cálculos los siguientes supuestos: Prevalencia estimada 20%, Error aceptable 6% y Nivel de confianza 95%. De los cálculos efectuados surgió que era necesario muestrear un total de 160 establecimientos.

b) para determinar la cantidad de animales a muestrear se usaron los siguientes supuestos: Prevalencia estimada 4%, Error aceptable 1% y Nivel de confianza 95%.

De los cálculos efectuados surgió que era necesario muestrear un total de 1470 animales, determinándose que por ser la brucelosis una enfermedad de animales sexualmente maduros, muestrear hembras mayores de 18 meses de edad.

Teniendo en cuenta los cálculos anteriores (1470 animales de 160 establecimientos) se decidió tomar un mínimo de 10 muestras por establecimiento. El número de establecimientos a seleccionar en los departamentos que participan de la encuesta, se determinó de manera proporcional a la cantidad de hembras bovinas adultas existentes en cada uno de ellos, como se indica en la Tabla N° 2.

Tabla N° 2: Cantidad de establecimientos y animales a muestrear según departamentos incluidos en el estudio.

Departamentos	N° establec.	N° vacas	% vacas	Campos a muestrear	Vacas a Muestrear
Alsina secano	419	60019	25	40	400
Alsina Idevi	311	4137	2	3	30
Pichi Mahuida	287	78407	33	52	520
Conesa	521	44706	19	30	300
Roca	104	12357	5	8	80
San Antonio	39	5564	2	4	40
Avellaneda	621	34452	14	23	230
Totales	2302	239642	100	160	1600

Los establecimientos a muestrear dentro de cada departamento fueron seleccionados al azar, mediante el uso de la utilidad de generación de números aleatorios del programa Csurvey, Ver. 1.5 (Arlawan et al., 1997). Por cada establecimiento elegido, se sortearon dos reemplazos para los casos en que el establecimiento titular no pudiera ser muestreado.

Las muestras de sangre fueron tomadas previamente a la aplicación de la dosis de la vacuna antiaftosa, por el personal afectado por los distintos Entes a la campaña de vacunación antiaftosa.

3. Pruebas diagnósticas utilizadas

Siguiendo con lo reglamentado por las resoluciones 115/99 y 150/02 y el manual de procedimientos del Laboratorio de Brucelosis del SENASA se usó como prueba tamiz la aglutinación rápida en placa con antígeno buferado (BPA) y todos los positivos a la prueba tamiz fueron procesados con las técnicas confirmatorias de Sero-aglutinación lenta en tubo (SAT) y Sero-aglutinación lenta en tubo con 2-Mercapto-etanol (2-ME).

RESULTADOS

En la Tabla N° 3, se muestra la eficiencia lograda en el muestreo, medida ésta como la diferencia entre lo planeado según exigencias del diseño y lo realizado a campo. Por motivos ajenos a los autores del presente estudio, no hubo recolección de muestras en el departamento de Avellaneda y fue parcial en General Conesa.

Tabla N° 3: Establecimientos a muestrear según diseño y establecimientos muestreados durante el estudio.

Departamentos	Campos a muestrear	Campos muestreados	% de muestreo
Alsina Idevi	3	5	167
Alsina Secano	40	56	140
Avellaneda	23	0	0
Conesa	30	10	33
Pichi Mahuida	52	98	188
Roca	8	8	100
SAO	4	5	125
Totales	160	182	

En la Tabla N° 4 pueden observarse los porcentajes de cumplimiento respecto a la cantidad de animales muestreados según el objetivo establecido.

Tabla N° 4: Animales a muestrear según diseño y animales muestreados según departamentos participantes del estudio.

Departamentos	animales a muestrear	muestreados	% de muestreo
Alsina Idevi	30	60	200
Alsina Secano	400	549	137
Avellaneda	230	-	-
Conesa	300	100	33
Pichi Mahuida	520	979	188
Roca	80	80	100
SAO	40	50	125
Totales	1600	1818	114

Respecto a la calidad de las muestras de suero obtenidas, en la Tabla N° 5 se puede apreciar la cantidad de muestras de sangre recolectadas y la cantidad de sueros obtenidos y considerados aptos para su procesamiento.

Tabla N° 5: Cantidad y calidad de las muestras de suero obtenidas aptas para su procesamiento.

Departamentos	Muestras de sangre obtenidas	Muestras aptas procesadas	Eficiencia %
Alsina Idevi	60	60	100
Alsina Secano	549	545	99
Conesa	100	98	98
Pichi Mahuida	979	949	97
Roca	80	73	91
SAO	50	49	98
Totales	1818	1774	98

En la Tabla N° 6 puede observarse la cantidad y el porcentaje de establecimientos que resultaron positivos por departamento, como así también el rango de las prevalencias a nivel de predio halladas en cada departamento. Se consideró establecimiento positivo todo aquel que tuviera al menos un animal positivo a las pruebas confirmatorias.

Tabla N° 6: Cantidad de establecimientos muestreados, cantidad y porcentaje de establecimientos positivos y rango de las prevalencias halladas a nivel de establecimientos positivos.

Departamento	Campos muestreados	N° campos positivos	% campos positivos	Rangos de prevalencia en campos (+)
Alsina Idevi	5	1	20	20
Alsina secano	56	8	14.3	10 – 40
Conesa	10	1	10	30
Roca	8	0	-	-
Pichi Mahuida	98	27	27.6	10 – 40
SAO	5	2	40	10 – 11.1
Totales	182	39	21.43	

La totalidad de los sueros obtenidos (1774) fueron procesados mediante la prueba tamiz del BPA, pudiéndose apreciar en la Tabla N° 7 los resultados obtenidos.

Tabla N° 7: Resultados de la serología obtenidos con la prueba del BPA

Departamento	N° muestras procesadas	BPA Positivas	% BPA positivas
Alsina Idevi	60	7	11.7
Alsina secano	545	63	11.6
Conesa	98	8	8.2
Roca	73	1	1.4
Pichi Mahuida	949	101	10.6
SAO	49	6	12.2
Totales	1774	186	10.5

Todos los sueros positivos a la prueba del BPA fueron procesados por las pruebas confirmatorias de SAT y 2-ME para determinar su status final respecto a la enfermedad. En la Tabla N° 8 se presentan los resultados de los 186 sueros positivos al BPA.

Tabla N° 8: Resultados de la serología correspondiente a las pruebas complementarias de SAT y 2-ME.

Departamentos	N° muestras procesadas	BPA Positivas	Resultados de pruebas confirmatorias				
			Positivas	Negativas	Sospechosas	P + S	% Reaccionantes
Alsina Idevi	60	7	2	5	0	2	3.3
Alsina secano	545	63	13	49	1	14	2.6
Conesa	98	8	3	5	0	3	3.1
Roca	73	1	0	1	0	0	0.0
Pichi Mahuida	949	101	42	57	2	44	4.6
SAO	49	6	0	4	2	2	4.1
Totales	1774	186	60	121	5	65	3.7
% s/total (1774)			3.4	6.8	0.3	3.7	
% s/BPA+ (186)			32.3	65.5	2.7	34.9	

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

La mayoría de los departamentos cumplió con creces las metas propuestas respecto al número de establecimientos a muestrear, ocurriendo lo mismo con la cantidad total de muestras de sangre a recolectar por departamento. La excepción la constituyeron los departamentos de Avellaneda que no muestreó establecimiento alguno y Conesa que solo logró un 33% de lo planificado.

Respecto a la calidad de las muestras de suero obtenidas en el laboratorio a partir de las muestras de sangre que llegaron del campo, punto crítico éste sobre todo en las condiciones de trabajo de Patagonia, todos los departamentos estuvieron por encima del 90% de eficiencia. Esto marca, una mejora sustancial respecto a trabajos anteriores, donde gran cantidad de muestras fueron descartadas por la falta de liberación de suero, por hemólisis severa del suero obtenido y/o por putrefacción de la muestra en algunos casos.

El porcentaje de animales reaccionantes a la prueba del BPA (Tabla N° 7), resultó similar en la mayoría de los departamentos con un rango del 8.2% al 12.2% con la excepción de General Roca (1.4%) que estuvo muy por debajo del promedio general (10.5%).

De los 186 sueros positivos al BPA (Tabla N° 8), solo el 32.3% fue clasificado como positivo por las pruebas confirmatorias, el 2.7% como sospechosos y el 64% como negativos. De esto se desprende que el 64.5% de los sueros positivos al BPA, resultaron ser falsos positivos, debido probablemente a anticuerpos persistentes como resultado de la vacunación de las hembras con vacuna *Brucella abortus* cepa 19, a una edad que sobrepasó los 8 meses de edad, límite máximo que permite la legislación vigente. Al tomar en conjunto los sueros positivos y sospechosos a las pruebas confirmatorias se obtuvo una tasa de reaccionantes del 3.7% respecto al total de la muestra del estudio. No hubo una gran variación entre los departamentos positivos (Tabla N° 8), ya que los porcentajes de reaccionantes se mantuvieron en un rango ubicado entre 2.6% para Adolfo Alsina secano hasta un 4.6% para Pichi Mahuida.

En vista de los resultados obtenidos con la serología, se podría concluir que la enfermedad estaría distribuida en casi la totalidad de los departamentos estudiados, sin embargo solo el 21.4% de los establecimientos muestreados resultaron positivos (Tabla N° 6). Dentro de los establecimientos positivos se observó una variación de las prevalencias de entre 10% al 40%, lo cual constituye un hecho preocupante, en el sentido que esos establecimientos con alta prevalencia, constituyen reservorios importantes de la enfermedad y posible fuente de contagio a otros establecimientos.

A fin de transpolar los valores hallados en la muestra, a la población objetivo total, y teniendo en cuenta los parámetros usados al momento del muestreo, se podría inferir con un 95% de confianza que la prevalencia de establecimientos infectados en la zona estudiada (con excepción de Avellaneda) es de $21.4 \pm$ un error absoluto de 6.0 (15.4% - 27.4%) y que la prevalencia de animales infectados en la zona estudiada (con excepción de Avellaneda) es de $3.7\% \pm$ un error absoluto de 1.0 (2.7% a 4.7%).

Tomando el valor de prevalencia hallada (3.7%) y el stock de vacas (239.642) se estima que habría aproximadamente unas 8866 vacas brucelosas repartidas en 492 establecimientos.

Al comparar los resultados del estudio del Senasa y la provincia de Río Negro de 1987, que tomó un área similar a la del estudio actual, el 16.67% de los establecimientos resultaron positivos contra un 21.4% del presente. Una tendencia similar se observa al comparar la prevalencia de animales reaccionantes en 1987 que fue del 2.78% contra la actual del 3.70%. Estos datos estarían indicando que la situación de la enfermedad al presente es peor a la registrada hace 17 años atrás, ya que habría un 4.73% más de establecimientos infectados y un 0.92% más de animales positivos. De este análisis surge la necesidad de realizar un profundo análisis crítico de las estrategias de control aplicadas durante este período, ya que (1) no se ha logrado controlar la enfermedad, (2) se han producido importantes erogaciones por parte del estado nacional, provincial y de los productores en actividades de control y (3) se ha producido un desgaste, sobre todo a nivel de los productores, por la falta de continuidad de las medidas de control y por la falta de resultados alentadores.

A fin de poder proceder a la toma de decisiones para el control efectivo de la brucelosis en la provincia de Río Negro, sería deseable contar con información fidedigna y actualizada de la enfermedad en toda la provincia. Para ello es necesario planificar y ejecutar un relevamiento similar en el área sin vacunación antiaftosa, manteniendo el diseño y pautas de muestreo utilizados en la zona norte de la provincia e incluir los departamentos de Conesa y Avellaneda, que en esta oportunidad no participaron total o parcialmente del estudio.

AGRADECIMIENTOS:

A directivos e integrantes de Funbapa, Dir. Ganadería de Río Negro, Grupo Salud Animal INTA Bariloche, Co.Pro.S.A., Senasa, Soc. Rurales y Entes de Vacunación de Gral. Roca, Río Colorado, Gral. Conesa, SAO, Guardia Mitre y Viedma.

BIBLIOGRAFIA

1. ACHA, P.N.; SZYFRES, B. (1986) Zoonosis y enfermedades transmi-sibles comunes al hombre y a los animales. 2da Edición. Organización Panamericana de la Salud, Washington, USA. 989 pag.
2. ARLAWAN, I; FRERICHS, R. (1997) CSurvey Ver 1.5 - A cluster sampling utility program for IBM-compatible microcomputers. Department of Biostatistics & Population Studies, University of Indonesia & University of California at Los Angeles-UCLA.
3. BENGOCHEA (1987) Informe complementario del muestreo de Brucelosis efectuado en cuatro departamentos de la provincia de Río Negro y el departamento de Patagones de la provincia de Bs. As. Laboratorio Regional Viedma-Selab. 5 pág.
4. DE BLAS, N.; ORTEGA, C.; FRANKENA, K.; NOORDHUIZEN, J.; THRUSFIELD, M. (2000) Win Episcopa 2.0. Universidades de Zaragoza (España), Wageningen (Holanda) y Edimburgo (Escocia).

5. ENRIGHT, F.M. (1990) The pathogenesis and pathobiology of Brucella infection in domestic animals. :301-320. En: Animal Brucellosis, edited by Nielsen & Duncan, CRC Press, Boca Ratón, USA.
6. LAYANA, J.; GONZÁLES, N.; MOREIRA, A.R.; VAGHI, C.; UZAL, F.A (1997) Encuesta serológica sobre Brucelosis, Leucosis y Paratu-berculosis Bovinas en el noroeste de la provincia de Río Negro. Vet Arg. Vol 14 (132):83-90.
7. PANEL DE BRUCELOSIS de la Primera Reunión Argentina de Ciencias Veterinarias, auspiciada por la Sociedad de Medicina Veterinaria en sus 75 años de vida.: 284-307.
8. RADOSTITIS, O.M.; BLOOD, D.C.; GAY, C.C. (1994) Veterinary Medicine. Ed: ELBS, Bailliere Tindall, London, UK. 1763 pag.
9. SELSA (1980) Muestreo de Brucelosis en el departamento de Pichi Mahuida (Río Negro). Comunicación de I. Walsh al CEPANZO en 1982 (En: García Carrillo, C. (1987). La Brucelosis de los animales en América y su relación con la infección humana. Office International des Epizooties, París, Francia. 303 pag)
10. SUÁREZ, M.C.; ARRIGO, J.L.; ROBLES, C.A.; UZAL, F.A.; QUINTRIQUEO E., URCULLÚ, J.; BENGOCHEA, A. (1988) Relevamiento de las enfermedades infecciosas de la reproducción y enfermedades parasitarias en cuatro establecimientos del NE del Monte Rionegrino. Programa de Desarrollo Ganadero. INTA-Gob. de Río Negro :196-206.