

1

**UNIVERSIDAD AUTONOMA
"GABRIEL RENE MORENO"**
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS



BORRADOR TESIS DE GRADO

**PREVALENCIA DE BRUCELOSIS BOVINA EN EL
MUNICIPIO DE ROBORÉ PROV. CHIQUITOS
DPTO. SANTA CRUZ**

Tesis de Grado presentado por:
Valdilene Zao de Aguiar

Para obtener el Título de:
Médico Veterinario Zootecnista

Asesores:
Dr. Roberto Quezada Dorado
Dr. Jorge Cruz Patiño

**SANTA CRUZ – BOLIVIA
2007**

DEDICATORIA

Con mucho amor y cariño a mis queridos padres, Valdir y Maria Nasaré Por el apoyo moral y material que me brindaron Para lograr mi formación profesional.

A mi querida hermana Rita Camila y a mí marido Angelo por el apoyo y amor que me brindaron.

AGRADECIMIENTOS

- ❖ A Dios en primer lugar por darme la vida, iluminarme y cuidarme en todos los momentos de mi vida.
- ❖ A la U.A.G.R.M. y los docentes de la F.C.V, por su contribución en mi Formación Profesional.
- ❖ A la Asociación de Productores de Leche de Roboré (ADEPLER) y a todos los socios por su colaboración en el trabajo de campo.
- ❖ Al Servicio Nacional de Sanidad animal e inocuidad Alimentaria de Roboré (SENASAG), por su colaboración con su laboratorio.
- ❖ A mis Asesores Dr. Roberto Quezada D. y Dr. Jorge Cruz P., por su asesoramiento en la realización del presente trabajo de investigación.
- ❖ Al Instituto de Investigación de la F.C.V. dirigido por el Dr. Juan Antonio Pereira R., por su responsable e importante trabajo que desempeña.
- ❖ A mi tribunal, Dr. Miguel Justiniano, Dr. Emilio Arze y al Dr. Gerardo Barba por la revisión y corrección del presente trabajo.
- ❖ A mis compañeros de la promoción 2-2006, de la F.C.V-U.A.G.R.M, por los gratos momentos vividos en nuestra vida universitaria.
- ❖ A todos mis familiares y amigos que me brindaron su apoyo moral.
- ❖ A la Familia Barba por brindarme su gran apoyo moral
- ❖ A todos los ganaderos de la zona de estudio por colaborarme en la ejecución del presente trabajo.

INDICE

CONTENIDO	Pág.
TITULO	I
DEDICATORIA	II
AGRADECIMIENTOS	III
INDICE DE CONTENIDO	IV
INDICE DE CUADROS	V
RESUMEN	VI
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISION BIBLIOGRAFICA	5
4.1.- Definición	5
4.2.- Sinonimia	6
4.3.- Historia	6
4.4.- Distribución Geográfica	7
4.5.- Etiología	8
4.6.- Morfología	9
4.6.- Características de cultivo y resistencia	10
4.7.- Factores de Virulencia	11
4.8.- Transmisión y Fuente de infección	11
4.9.- Patogenia	14
4.10.- Signos Clínicos	16
4.11.- Alteraciones Anatomopatológicas	18
4.12.- Diagnóstico	18
4.13.- Diagnóstico diferencial	25
4.14.- Tratamiento	26
4.15.- Profilaxis	27
4.16.- Vacunas e inmunidad	28
4.17.- Control y erradicación	32
4.18.- La enfermedad en el hombre	32

V.	MATERIALES Y METODOS	34
5.1.-	Localización del área de trabajo	34
5.2.-	Material	34
5.3.-	Unidad de muestreo	35
5.4.-	Métodos	35
5.5.-	Método de campo	35
5.6.-	Método de laboratorio	36
5.7.-	Métodos estadísticos	36
VI.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
VII.	CONCLUSIÓN Y RECOMENDACIONES	47
VIII.	BIBLIOGRAFIA	49
IX.	ANEXOS	53

INDICE DE CUADROS

CONTENIDO	Pág.
CUADRO N° 1 DIFUSION DE LA BRUCELOSIS BOVINA EN EL SECTOR LECHERO DEL MUNICIPIO DE ROBORÉ, PROV. CHIQUITOS, DPTO. SANTA CRUZ PRUEBA DEL ANILLO EN LA LECHE...	40
CUADRO N° 2 BOVINA EN EL SECTOR LECHERO DEL MUNICIPIO DE ROBORÉ, PROV. CHIQUITOS, DPTO. SANTA CRUZ.....	41
CUADRO N° 3 PREVALENCIA DE LA BRUCELOSIS BOVINA POR EDAD.....	42
CUADRO N° 4 PREVALENCIA DE LA BRUCELOSIS BOVINA POR RAZA.....	43
CUADRO N° 5 PREVALENCIA DE LA BRUCELOSIS BOVINA POR SEXO.....	44
CUADRO N° 6 PREVALENCIA DE LA BRUCELOSIS BOVINA POR CATEGORIA.....	45
CUADRO N° 7 PREVALENCIA DE LA BRUCELOSIS BOVINA POR LOCALIDAD.....	46

**SITUACIÓN DE LA BRUCELOSIS BOVINA EN EL SECTOR LECHERO
DEL MUNICIPIO DE ROBORÉ PROV. CHIQUITOS DPTO. SANTA
CRUZ, AGUIAR¹, QUEZADA D.R.², CRUZ P.J.³.
Facultad de Ciencias Veterinarias**

RESUMEN

El presente trabajo fue realizado entre los meses de septiembre y octubre de 2006, para conocer el grado de difusión y la prevalencia de la brucelosis bovina en el sector lechero del municipio de Roboré, Prov. Chiquitos, Dpto. Santa Cruz mediante la Prueba del Anillo en la leche, prueba de seroaglutinación rápida en placa con antígeno bufferado y ELISA. Se determinó el tamaño de la muestra en base al registro de la Asociación de Ganaderos de Roboré la cual es de 350 bovinos de leche en 16 hatos lecheros, a partir de eso se calculó un número de muestras de 183 sueros sanguíneos según la fórmula para estimar una prevalencia, con 50% de prevalencia probable con 5% de precisión y 95% de confianza. Se tomaron en cuenta las variables edad, raza, sexo, categoría y localidad. Los sueros se procesaron en el laboratorio de SENASAG-Roboré. Los reactores positivos fueron enviados al laboratorio de Investigación y Diagnóstico Veterinario (LIDIVET) para la confirmación mediante la prueba de ELISA. No se encontraron casos positivos. Cabe destacar que en la prueba del anillo en la leche hubo reacción positiva en una propiedad equivalente al 6.25%, pero no fue posible la toma de muestras individuales de los animales de dicha propiedad por la no autorización del propietario.

¹Tesis de Grado presentado por A. Z Valdilene para obtener el título de Médico Veterinario Zootecnista

² Médico Veterinario responsable por el Servicio Nacional de Sanidad Agropecuaria e inocuidad alimentario de Roboré (SENASAG)

³ Profesor titular de la Facultad de Ciencias Veterinaria de la Universidad Autónoma Gabriel Rene Moreno

I. INTRODUCCIÓN

No existe información escrita que permita fijar la época de aparición de la brucelosis en Bolivia, se supone que esta enfermedad fue introducida entre 1936 y 1939, con la importación de ganado de carne y leche de la República de Argentina, otros dicen que entró al país con ganado de procedencia Brasileña.

El Primer diagnóstico serológico del que se tiene referencia fue realizado en el año 1945 por el Dr. Vladimir Ribera.

La brucelosis es una enfermedad infectocontagiosa, aguda o crónica que afecta a los animales y que, accidentalmente se transmite al ser humano, quien juega un papel mínimo en su propagación, causada por bacterias del género *brucella*.

La mayoría de los investigadores opinan que la brucelosis en especial las infecciones producida por ***Brucella abortus*** y la ***Brucella. melitensis***, es de origen europeo y que su presencia en algunos países de América podría remontarse a la época de la conquista. (Garcia y col., 1987)

Entre los antecedentes históricos tenemos a D. BRUCE que en 1887 en la Isla de Malta, obtiene del Bazo de un soldado muerto el cocobacilus ***melitensis***, casi 10 años después dos veterinarios BANG Y STRIBOLT descubre la ***Brucella abortus*** en vacas que habían abortados. Pasaron varios años hasta que otro veterinario TRAUM en 1914 en California aísla la ***Brucella. suis*** de cerdos. (Ramacotti,F. 1976)

Se reconocen actualmente seis especies: ***Brucella melitensis***, ***Brucella. abortus***, ***Brucella suis*** y ***Brucella neotomae*** del grupo S, ***Brucella. ovis*** y ***Brucella canis*** del grupo R. Las

pérdidas económicas, expresadas en la disminución de la productividad en el rebaño bovino, se resumen en una menor producción de terneros por abortos, infertilidad en vaquillas, aumento del lapso interparto, menor producción de leche, alta tasa de reemplazos y pérdidas de peso en canales de carne. Hasta la fecha son realmente pocos los países que han logrado controlar y menos aún los que han llegado a erradicarla. (Nicoletti, 1986).

Esta enfermedad es de notificación obligatoria en muchos países, sin embargo, las estadísticas oficiales no reflejan el número real de personas infectadas, por lo que se estima que la verdadera incidencia sería de 10 a 25 veces más alta que la indicada. Los casos a menudo no son reconocidos y son tratados como "fiebre de origen desconocido"(OMS/OPS 1999).

La brucelosis plantea en todo el mundo un doble problema, sanitario (zoonosis) y económico que puede generar barreras en la comercialización de los animales y subproductos, lo cual podría alterar seriamente el desarrollo socioeconómico, especialmente de los pequeños ganaderos, el sector más vulnerable en muchas poblaciones rurales. (OMS/OPS 1999).

El presente trabajo de investigación se justifica por la necesidad de conocer la situación epidemiológica de la brucelosis bovina del Municipio de Roboré de la Provincia Chiquitos del departamento de Santa Cruz , ya que hasta la fecha no se ha realizado ningún tipo de trabajo de investigación en esta localidad sobre esta temática, para poder así tomar medidas adecuadas que permitan controlarla y/o erradicarla y al mismo tiempo, colaborar a la instituciones (SENASAG) y autoridades correspondientes (SEDES) sobre el peligro que ocasiona esta enfermedad

a la salud humana y la población ganadera proporcionado un medio informativo de los problemas ocasionados por esta zoonosis como principalmente las importantes pérdidas económicas en los hatos ganaderos. Garantizando así que la leche llegue a los colegios, mercados y otros establecimientos libre de esta enfermedad.

Los objetivos planteados para el presente trabajo fueron los siguientes:
Determinar la prevalencia de la brucelosis bovina en el municipio de Roboré, Provincia Chiquitos del Dpto. de Santa Cruz. Determinar si las variables: raza, sexo, edad, categoría, y lugar son un factor de riesgo. Aportar con los datos a los ganaderos de la zona para el posterior control y/o erradicación de la enfermedad.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. DEFINICIÓN

La brucelosis bovina es una enfermedad infectocontagiosa aguda o crónica producida por la bacteria ***Brucella abortus*** que afecta, principalmente al ganado bovino, ovino, caprino canino, equino en hembras en edad reproductiva, provocándoles abortos y al hombre. Los machos también pueden infectarse y la enfermedad se manifiesta con pérdida de la fertilidad debido a orquitis y epididimitis. (Merck y col., 2000)

La ***Brucella abortus*** se ubica intracelularmente y, por ello, los tratamientos en animales no son efectivos. En el caso de los humanos se requiere el uso de asociaciones de antibióticos administrados por períodos prolongados.

La enfermedad se trasmite generalmente por la llegada de un animal enfermo al predio, el cual aborta o presenta un parto normal; en cualquiera de dichos eventos se produce una alta excreción de bacterias al medio ambiente, desde donde se infectan los animales sanos. Este sistema de transmisión hace que los predios donde existen condiciones de alta densidad animal sean muy susceptibles, por ello la enfermedad se manifiesta con mayor frecuencia en predios lecheros (explotaciones intensivas), que en los que se dedican a la producción de carne (explotaciones extensivas).

Los predios donde permanentemente ingresan animales o aquellos que comparten lugares de pastoreo también son de alto riesgo, debido a que exponen constantemente su ganado a la posibilidad de que se incorpore al rebaño un bovino infectado, con las consecuencias señaladas.

La brucelosis bovina se caracteriza por ser una enfermedad de área o comunitaria, es decir, cuando un predio está infectado, lo más probable es que toda el área esté afectada. (<http://www.fao.org/ag/againfo/subjects/es/health/diseases-cards/brucellosi-ov.html>)

2.2. SINONIMIA

Metilocococia, fiebre ondulante, fiebre de Malta, fiebre del Mediterráneo en el Hombre, aborto contagioso, aborto infeccioso, aborto epizoótico en animales, enfermedad de Bang, bacillus abortus (en bovinos) (Acha y col., 1988; Bruner y col., 1970).

2.3. HISTORIA

En 1565 en Inglaterra se conoció una forma de aborto contagioso en vacunos. En 1861, Marston describió una enfermedad debilitante cuya sintomatología producía malestar general, anorexia, fiebre y debilidad muscular, denominada Fiebre Gástrica remitente. En 1887, D. Bruce describió el primer miembro del género *Brucella*, a partir de casos de fiebre de Malta en isla del mismo nombre, estudiando la enfermedad humana descubrió en el bazo de los sujetos muertos un microorganismo que llamó ***Micrococcus melitensis***. En 1897, B. Bang en Dinamarca, descubrió la ***Brucella abortus*** en vacas abortadas y demostró que era la causa de la enfermedad conocida con el nombre de la enfermedad de Bang, Brucelosis o aborto epizoótico del ganado bovino (Mascaro, 1975).

En 1914, J. Traum descubrió ***Brucella suis*** en cerdas abortadas. En 1918, Alicia Evans demostró la relación taxonómica entre ***Brucella abortus*** y ***Brucella melitensis***. El primer caso de fiebre ondulante humana producida por ***Brucella abortus*** fue estudiado por Keefer, en 1924. En 1920, Meyer propuso el nombre *Brucella* para el género. Evans llegó a la conclusión de que los gérmenes tan parecidos que deberían producir enfermedades similares en especies animales diferentes. Tratándose de 3 especies diferentes estos gérmenes de *Brucella* y se conoce como ***B. melitensis***, ***B. abortus*** y ***Brucella suis***.

El primer diagnóstico serológico del que se tiene referencia en Bolivia fue realizado en el año de 1945 por el Dr. Vladimir Ribera. No hay datos disponibles sobre confirmación bacteriológica. (Merchant y col., Burrows, 1974; Piatkin y col., 1989; García y col., 1987).

2.4. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

La brucelosis bovina esta ampliamente distribuida en el mundo, existiendo diferencias en las tasas de infección entre los países. La distribución de las diferentes especies de *Brucella* y sus biotipos presenta variaciones geográficas: La ***Brucella abortus*** es la mas ampliamente difundida; y la ***Brucella melitensis*** y ***Brucella suis*** tienen distribución irregular; ***Brucella neotomae*** se aisló de ratas del desierto (*Neotoma lepida*) en Utah, Estados Unidos de América y su distribución se limita a los focos naturales, sin haberse comprobado la infección en el hombre o en animales domésticos. La presencia de la ***Brucella canis*** ha sido comprobada bacteriológicamente en Estados Unidos, Brasil, Alemania, Japón y Republica Federal de Madagascar y ***Brucella ovis*** parece estar distribuida en todos los países donde la cría de ovinos es importante

El primer país que se declaró libre de la enfermedad fue Chipre en 1932, de allí en adelante otros países como Gran Bretaña se encontraron libres. El único país latinoamericano oficialmente libre es Cuba desde 1989 (Acha y col., 1988, OPS/OMS, 1999).

No existe información escrita que permita fijar la época de aparición de la brucelosis en Bolivia, se supone que esta enfermedad fue introducida entre 1936 y 1939, con la importación de ganado de carne y leche de la República de Argentina, otros dicen que entró al país con ganado de procedencia Brasileña. (García y col., 1987)

2.5. ETIOLOGÍA

El agente causal, ***Brucella sp.*** es un cocobacilo, aeróbico, Gram negativo, el cual infecta en forma primaria a los animales. Se reconocen tres especies clásicas responsables de la brucelosis humana, con especificidad de especie animal, distribución geográfica y peculiaridades patógenas.

Como agente etiológico se reconocen actualmente seis especies del género ***Brucella***:

Brucella melitensis*, *Brucella abortus*, *Brucella suis*, *Brucella neotomae*, *Brucella ovis*, *Brucella canis Las tres primeras, denominadas "Brucellas clásicas", se han subdividido a la vez en biotipos, que se distinguen por sus características bioquímicas y/o comportamiento frente a los sueros monoespecíficos A (abortus) y M (melitensis).

Brucella melitensis: El agente responsable de la mayoría de los casos humanos diagnosticados bacteriológicamente, se subdivide en 3 biotipos

(1-3) y se conoce como la especie más patógena e invasiva, que afecta comúnmente a las cabras. Pero también es activamente patógena para el ganado bovino y ovino además de ser una zoonosis.

Brucella abortus, es la principal responsable de la Brucelosis bovina, se subdivide en 8 biotipos (1-9, ya que se suprimió el biotipo 8); por ser menos patógena, se ha relacionado hasta ahora con infecciones leves y con un alto porcentaje de casos asintomático, característicos de individuos profesionalmente expuestos.

Brucella ovis; Agente causal de la epididimitis del carnero, reviste gran importancia en zonas de explotación de ovinos.

Brucella suis se subdivide en 4 biotipos (1-4); Afecta a los cerdos produciendo abortos, infertilidad y parálisis posterior.

Brucella canis; Agente causal de la Brucelosis canina en ambos sexos y zoonosis de menos grado que las brucellas clásicas.

Brucella neomatae; Afecta a las ratas principalmente, es la Brucelosis murina (Acha y col., 1988)

2.6 MORFOLOGÍA

El género *Brucella* con todas sus especies se ha definido como un cocobacilo gran negativo, mide de 0,3 a 0,8 micras de ancho y de 0,4 a 2 micras de largo, no presenta cápsula ni forma esporas son inmóviles suelen encontrarse aislados o en pares muy raras veces en cadenas corta, pueden observarse cápsulas con tinciones especiales , son

intracelulares , son gérmenes aerobios facultativos algunos necesitan que se añaden 5 o 10% de anhídrido carbónico (*Brucella abortus* y *Brucella ovis*) , aunque para la *Brucella suis* y *Brucilla melintensis* es suficiente el que existe en el aire, la temperatura óptima es de 37°C. , ph óptimo es de 6,6 a 6,8 para su crecimiento, las vitaminas especiales son: Tiamina, biotita, pantotenato de calcio (Burrows 1974 Merchant y col., 1970).

2.7. CARACTERISTICAS DE CULTIVO Y RESISTENCIA

El microorganismo fue cultivado por primera vez por Bang y Stribolt, en una mezcla de gelatina, agar y suero. Pero se desarrollan con facilidad en Agar Albani Brucella, patata y triptosa agar, requieren de una temperatura de 37 grados centígrados un ph de 6.4 a 7.4, el periodo de incubación es de 72 a 96 horas, son bacterias aerobias y requieren un 10 % de anhídrido carbónico para su crecimiento, sus colonias son pequeñas como gotitas de rocío, tiene una superficie convexa y bordes lisos. No son muy resistentes a los desinfectantes, a la luz del sol y a la deshidratación. Se destruye rápidamente por efecto de la putrefacción , la pasteurización las destruye , en la orina de animales enfermos permanecen durante 80 días , en el agua de bebida 72 horas en el polvo de calles , de corrales y en cadáveres de Brucelosis durante 14 días , en útero de vacas , en la leche fresca , vive 8 días y en el suero de la leche 35 días , en el estiércol de bovino a 37 grados centígrados , mantenido a la sombra , resiste 100 días, también resiste a la acción de la bilis (Mascaró, 1975).

Las Brucellas no son suficientemente sensibles a la penicilina, la estreptomycin, tetraciclina, cloranfenicol y ácido para- aminobenzoico inhiben el crecimiento de este germen y son útiles en el tratamiento de la

brucelosis humana. En los animales su empleo está limitado a los métodos experimentales. (Merchant y col., 1970 Hutyra y col. 1973).

2.8. FACTORES DE VIRULENCIA

El principal factor de virulencia de las Brucellas es el tipo A (parte del complejo lipopolisacárido), el cual posee cinco veces más propiedades patogénicas que la endotoxina de las enterobacteráceas. Las endotoxinas de las brucellas pueden variar según la especie animal. Además, los factores de virulencia localizados en la pared celular desarrollan actividad antileucocitaria. Otros factores de virulencia potencial de las Brucellas es el hidrato de carbono de la pared celular que es responsable de la fijación a los linfocitos B. humanos (Nicolet. 1986)

2.9. TRANSMISIÓN Y FUENTE DE INFECCIÓN

Los reservorios naturales de *Brucella abortus*, *Brucella suis* y *Brucella melitensis* son los bovinos, los porcinos, los caprinos respectivamente. El huésped natural de *Brucella canis* es el perro, el de *Brucella ovis* el ovino y el de *Brucella maris* algunos mamíferos marinos. (www.misionrg.com.ar/brucelo.htm)

El consumo de alimentos contaminados, como leche y quesos no pasteurizados; la inhalación de aerosoles infectantes y el contacto con productos de la concepción de animales infectados, son las principales fuentes de infección. Casos de transmisión persona a persona, por trasplante de tejidos o por contacto sexual, son ocasionalmente reportados. Otra forma de adquirir la infección es a través de accidentes con el manejo de vacunas.

La brucelosis humana es, en gran parte, una enfermedad ocupacional de obreros pecuarios, personal de mataderos, matarifes, carniceros y médicos veterinarios. (www.misionrg.com.ar/brucelo.htm)

La transmisión de ***Brucella abortus*** ocurre principalmente por vía oral porque las vacas tienden a lamer los fetos y las descargas genitales que se producen durante el aborto. La exposición a la bacteria también puede ocurrir en el útero o cuando los terneros nacidos de vacas sanas, son alimentados con calostro o leche de vacas infectadas. (Merck y col. 2000)

Se ha establecido que la brucelosis en los toros, no siempre resulta en infertilidad, aunque la calidad del semen, puede estar alterada. Los toros que permanecen fértiles y funcionalmente activos, generarán y diseminarán bacterias con el semen durante la fase aguda de la enfermedad, la que puede cesar o volverse intermitente. En contraste con la inseminación artificial, los toros utilizados en servicios naturales pueden fallar en la transmisión de la enfermedad, debido a que el semen no es depositado en el útero.

Si bien la exposición indirecta a las bacterias del género *Brucella* puede estar mediada por animales salvajes, los pájaros y el agua (contaminada con orina, descargas uterinas o materia fecal y desechos de vacas abortadas), se ha observado que solamente los perros pueden transportar trozos de placenta o fetos abortados de un lugar a otro, generando la exposición directa al microorganismo.

La contaminación de los corrales o pasturas tiene lugar cuando las vacas infectadas abortan o paren normalmente al término de la gestación. Aunque es ampliamente aceptado que ***Brucella abortus*** no es excretada por un tiempo considerable previo al aborto, la excreción en la descarga vaginal de vacas infectadas puede ocurrir tan temprano como a los 39

días después de la exposición. Una masiva excreción de *Brucella* comienza después del aborto y puede continuar por 15 días. Una vez que las membranas fetales son expulsadas la descarga uterina disminuye y el número de microorganismos excretados desciende rápidamente. Aunque la descarga del tracto genital usualmente se libera de microorganismos después de 2-3 meses de la infección, algunas vacas pueden quedar como portadoras y excretar bacterias de manera intermitente y por muchos años.

Tovar ha demostrado que las garrapatas, pulgas y chinches pueden infectarse con las tres especies de *Brucellas*; pero las garrapatas pueden infectar mediante picadura y transmitir la infección a sus huevos y larvas.

Los carnívoros, pueden ser portadores del germen en unos se produce la infección mientras que en otros el germen se deposita en la materia fecal, y de allí contamina a los alimentos.

Los primates pueden infectarse con ***Brucella suis*** o ***Brucella melitensis*** y en ocasiones por ***Brucella abortus***, pero la enfermedad rara vez es progresiva. (www.misionrg.com.ar/brucelo.htm)

La infección congénita puede afectar a becerros que nacen de hembras enfermas. La infección ocurre en el útero y puede permanecer latente en la ternera toda su vida. El animal da pruebas serológicas negativas hasta el primer parto, momento en el cual comienza a desechar el microorganismo (Blood y col., 1987).

2.10. PATOGENIA

Los animales de un rebaño manifiestan distinto grado de susceptibilidad a la infección, según edad y el sexo. Las vaquillonas y las vacas constituyen la categoría más susceptibles y mas aún cuando están preñadas. El toro también puede enfermar, aunque algunos autores sostienen que es más resistente que la hembra. (Acha y col., 1988).

Las Brucellas penetran al organismo a través de las membranas mucosas conjuntivas, laceraciones, vía digestiva, respiratoria y a través de piel intacta.

La Brucella es una bacteria intracelular facultativa que puede sobrevivir dentro de la célula del hospedador causando una enfermedad infecciosa crónica que puede persistir durante toda la vida de un animal. Es probable que el comienzo de la infección por Brucella dependa de la magnitud de la dosis de exposición, virulencia del microorganismo y de la resistencia natural del animal a la Brucella .La resistencia a la infección se basa en la capacidad del hospedador para prevenir el establecimiento de la infección a nivel de las mucosas, por destrucción del organismo invasor.

La Brucella invasora usualmente se localiza en los linfonódulos drenantes del sitio de invasión, lo que resulta en hiperplasia del linfonódulo y del tejido retículoendotelial, acompañado por un infiltrado de células de la inflamación. Si la bacteria sobrevive a esa primera barrera de defensas, provoca una infección local, seguido por la diseminación a través de la sangre. Durante la fase de bacteremia (la cual puede durar 2-8 semanas) los huesos, articulaciones, ojos y cerebro pueden ser infectados, aunque la bacteria puede ser aislada más frecuentemente en los linfonódulos supramamarios, leche, linfonódulos ilíacos, bazo y útero.

El tropismo de la Brucella por el tracto reproductivo de machos y hembras estuvo asociado a los importantes niveles de **eritritol** presente en esos órganos; sin embargo, también se ha aislado la Brucella en el tracto reproductivo de animales donde los niveles de eritritol no eran detectables. (Hutyra y col., 1973, Blood y col., 1992)

Durante el curso agudo de la infección, el aborto ocurre a los cuatro o cinco meses de la preñez y en los bovinos, ocurre solamente una vez. En rodeos con Brucelosis endémica, es común el aborto y la retención de placenta, los abortos tardíos, o el nacimiento a término de terneros infectados. La excreción de Brucella después del parto, puede persistir por meses o años y también producirse, después de cualquier parto normal. Aunque no siempre puede ser detectada, la Brucella es excretada en el calostro y la leche de vacas infectadas

En los toros, la Brucella tiene predilección por los órganos reproductivos y los linfonódulos asociados a ellos. Durante la fase aguda de la infección el semen contiene una gran cantidad de microorganismos, pero a medida que el curso se torna crónico, el número de Brucellas excretadas va disminuyendo hasta que incluso cesa. Sin embargo, también puede ocurrir que continúe excretando bacterias por varios años o, hacerlo de manera intermitente. Usualmente, se observa orquitis, epididimitis y la infección también alcanza a las glándulas accesorias anexas (<http://www.salud.bioetica.org/brucelosis.htm>).

El aborto y expulsión del feto fue asociado a la placentitis causada por la Brucella. La proliferación de Brucella en el útero, provoca la necrosis y destrucción de las membranas placentarias maternas y fetales resultando en la muerte y posterior expulsión del feto. Los cambios patológicos a nivel de las carúnculas y cotiledones impiden la normal separación y expulsión de la placenta. Si bien la placentitis es la principal causa que limita el

normal funcionamiento de la placenta, las endotoxinas generadas por la *Brucella* pueden también jugar un rol importante en la inducción del aborto. La ***Brucella abortus*** puede inducir la producción elevada de cortisol que a su vez, deprime la producción de progesterona e incrementa la producción de estrógenos. El descenso de los niveles de progesterona acompañado por un aumento de los niveles de estrógeno, inducen a un parto prematuro (www.salud.bioetica.org/brucelosis.htm).

Las *Brucellas* se eliminan principalmente por los órganos genitales cuando la infección es activa sobre todo después del aborto, también se eliminan con la orina, heces y secreción nasal. De igual modo que anidan en las hembras en la matriz grávida, las *Brucellas* pueden anidar en los machos en los testículos, epidídimos y vesículas seminales y producir en estos órganos alteraciones inflamatorias necróticas (Hutyra y col., 1973; Blood y col., 1992).

2.11. SIGNOS CLÍNICOS

En la hembra el aborto es la manifestación más obvia. También puede haber producción de mortinatos, placenta retenida y menor producción de leche. En el macho están afectadas las vesículas seminales, las ampollas en los testículos y los epidídimos, por lo tanto la bacteria es secretada en el semen.

El período de incubación oscila entre 14 a 180 días, pero eventualmente puede ser de varios meses. Según Thomsen, será tanto más breve

cuando más avanzada fuese la preñez en el momento de producirse la infección,

La enfermedad puede ser leve y autolimitada o severa. Se caracteriza por comienzo agudo o insidioso, fiebre continua, intermitente o irregular de duración variable, sudor nocturno, fatiga, anorexia, pérdida de peso, cefalea, artralgia y malestar generalizado.

El aborto se anuncia por fenómenos indicadores de un proceso inflamatorio en las vías obstétricas. En la mucosa vaginal brotan con frecuencia granulaciones rojizas y por la vagina sale un flujo blanco gris o gris rojizo, mucoso o muco purulento, excepcionalmente también sanguinolento y siempre inodoro

Los terneros nacidos prematuramente suelen nacer muertos, pero los más desarrollados, a menudo nacen vivos. Con todo incluso los que han alcanzado mayor o menor madurez y hasta los nacidos a término de 1 a 2 días después o algo más tarde suelen sucumbir de gastroenteritis o de otra enfermedad septicémica. (Hutyra y col., 1973).

Para la definición de caso, la OMS recomienda lo siguiente

Caso Presunto: caso que es compatible con la descripción clínica y está vinculado epidemiológicamente a casos presuntos o confirmados en animales o a productos de origen animal contaminado.

Caso Probable: caso presunto con resultado positivo en la prueba de Rosa Bengala.

Caso Confirmado: caso presunto o probable que es confirmado en laboratorio. (Fuente del artículo: "**Brucelosis Bovina**". **REVISTA HEREFORD** (Asoc. Arg. Criadores de Hereford))

2.12. ALTERACIONES ANATOMOPATOLÓGICAS

En algunos puntos o en toda su extensión las cubiertas fetales ofrecen alguna infiltración gelatiforme amarilla con focos dispersos de fibrina y de pus, están en ocasiones engrosadas y a veces presentan estrías hemorrágicas. La placenta fetal es amarilla pálida en toda su extensión y esta cubierta de copos de fibrina o de pus amarillo verdoso. En el estómago del feto, en el cuajar se hallan masas amarillentas o blancas y en la mucosa de la vejiga urinaria puede verse puntos o estrías hemorrágicas, en el tejido conectivo subcutáneo o intramuscular pueden estar infiltradas de serosidad sanguinolenta, además hay tumefacción de los ganglios linfáticos y del bazo y a veces con focos inflamatorios necróticos dispersos en ellos. (Hutyra y Col., 1973).

Los hallazgos a la autopsia en adultos carecen de importancia para el diagnóstico. En vacas preñadas se hallan entre la mucosa uterina y el cordón cantidades de exudado mucoso con grumos de pus.

En el aparato reproductor del macho con Brucelosis puede haber hemorragias y hasta focos necróticos en la vesícula seminal, los testículos y epidídimo. (Esminger y Col., 1968).

2.13. DIAGNÓSTICO

En los bovinos el diagnóstico se basa sobre todo en la serología. En la actualidad se dispone de un gran número de diferentes pruebas, tales como:

Diagnóstico directo → Prueba bacteriológicas

Diagnóstico indirecto → Pruebas serológicas, entre las más utilizadas tenemos: Seroaglutinación lenta en tubo, ELISA, Prueba de reacción de

fijación de complemento, Rosa de Bengala, Prueba Biológica, Prueba de seroaglutinación rápida en placa con antígeno bufferado, Ring Test.

Tanto la reacción de una prueba serológica como su utilidad en cada circunstancia se basan en la sensibilidad que tiene para los anticuerpos de las diferentes clases de inmunoglobulinas y por la concentración sérica del anticuerpo de cada clase. (Comité Mixto FAO/OMS Expertos en Brucelosis 1996).

En el presente trabajo de investigación se utilizará las pruebas de seroaglutinación rápida en placa con antígeno bufferado, Ring Test y las pruebas que reaccionen positivas se realizarán la prueba de ELISA. Las cuales se describirán a continuación:

BPA- Antígeno Bufferado en placa

Esta prueba es de gran sensibilidad. El bajo pH. Elimina muchas de las reacciones inespecíficas.

Por estas cualidades sumadas a la rapidez de su ejecución resulta una excelente prueba TAMIZ para el diagnóstico de la Brucelosis Bovina.

Se ha comprobado en nuestro país que los sueros negativos a esta prueba resultan negativos a las pruebas serológicas estándar de aglutinación, 2- Mercaptoetanol y fijación de complemento de acuerdo al criterio internacional de interpretación de estas últimas. En el caso de los sueros positivos y confirmar resultado mediante el uso de pruebas complementarias.

Conservación de Antígeno

Debe estar conservado desde su elaboración hasta su uso entre 4- 8 °C , no debe congelarse porque modifica su sensibilidad. Antes de utilizarlo debe mantenerse 40 minutos a temperatura ambiente, temperatura optima 22°C, y agitarlo suavemente (no menos de 5 min.) para homogeneizarlo. Conviene mantener el frasco destapado lo imprescindible a fin de evitar la evaporación. Cuidado de no introducir goteros faltos de higiene.

La prueba se realiza en una placa de vidrio cuadrado con cuadros de 4x4 .No son necesarios aparatos especiales, además ofrece ventaja de ser rápida y sencilla, lo que permite aplicarla en forma masiva en campañas de control, erradicación y en muestreo para establecer prevalencia de la enfermedad. Sin embargo el método tiene el inconveniente de las aglutininas inespecíficas (Bruner y col., 1970).

Desarrollo de la prueba

- ❖ Lavar, desengrasar con alcohol etílico de 95° y secar cuidadosamente la placa de vidrio. En ambientes con temperaturas inferiores a 18 °C o superior a 26° C no debe trabajarse
- ❖ con una pipeta Bang en posición de 45° y apoyada sobre la placa de vidrio depositar 0,08 ml de suero.
- ❖ Mantener el gotero en posición perpendicular a la placa y desde una altura de 3cm colocar una gota (0,03 ml) de antígeno, sin burbujas, sobre el suero.
- ❖ Mezclar bien el suero con el antígeno, abarcando una superficie de 3cm de diámetro.
- ❖ Retirar la placa de vidrio e imprimir 2 o 3 movimientos rotativos para homogenizar la mezcla.

- ❖ Colocar la placa sobre el aglutinoscopio, cubriendo con la tapa para evitar evaporación, permaneciendo la luz apagada y se comienza tomar el tiempo
- ❖ Efectuar nueva rotación a los 5 min.
- ❖ A los 8 min. Rotar nuevamente la placa y con la luz encendida proceder a la lectura.

Interpretación

Reacción positiva: Cuando se forman grumos

Reacción negativa: Cuando la mezcla del suero y el antígeno es de turbidez homogénea y sin grumos. (SENASA 2006)

Prueba del anillo en la leche (Ring Test)

La prueba del anillo de leche se emplea en exámenes en gran escala para descubrir la presencia de brucelosis en un rebaño y es el método más práctico para localizar rebaños de ganado lechero infectados. Para identificar los animales infectados se han de examinar mediante pruebas serológicas los rebaño en los que la prueba de anillo de leche da resultados positivos. En muchas zonas, actualmente se recoge la leche en grandes recipientes con lo que aumentan considerablemente los factores de dilución en comparación con lo que ocurre cuando la leche se transporta en latas.

En esta prueba se utiliza 2 tipos de antígenos: El Antígeno azul, teñido por hematoxilina y el Antígeno rojo, teñido por tetrazolio. Salvo en el color, ambos antígenos presentan características muy similares. Para la leche de vaca se suele utilizar el teñido por hematoxilina. Mientras que para la leche de ovejas y cabras algunos laboratorios prefieren el teñido por tetrazolio.

Prueba del anillo en leche de vaca

Recogida de muestras de leche

Las muestras de leche se pueden recoger en tubos de 14x 100 mm que contengan 0,5 ml de solución conservadora de formalina. Se mezcla cuidadosamente la leche de latas o bidones para que la dispersión de la nata sea homogénea, de cada lata se saca cierta cantidad de leche pero sin mezclar en un mismo tubo de leche de más de 3 latas. Si se toma la leche de tanques no se ponga en un mismo tubo de leche de más de un tanque. Para tomar la leche de latas o de un recipiente grande se suele usar un cucharón metálico. A fin de evitar la mezcla de leche de distintos tanques y la producción de reacciones falsas o sospechosas, se ha de enjuagar cuidadosamente el cucharón en agua después de utilizarlo para tomar muestras de leche de cada rebaño. Antes de proceder a la prueba convendría conservar las muestras en refrigeración durante 48 a 72 hrs.

Técnica de la prueba

Mezclar cuidadosamente la muestra de leche para dispersar uniformemente la nata y transvasar 1 ml a un tubo de ensayo de 11x 100 mm. Agregar una gota (0,03 ml) del antígeno de la prueba del anillo y teniendo tapado el extremo del tubo con el dedo índice. Mezclar agitando suavemente e invirtiendo el tubo varias veces. Enjuagar y secar el dedo índice entre cada muestra. Dejar la mezcla en reposo durante 1 min., aproximadamente y examinarla después para cerciorarse de que el antígeno se ha mezclado completamente con la leche. Incubar a 37° C durante 1 hora.

Lectura de la Prueba

Para hacer la lectura de la prueba se utiliza una fuente uniforme de luz. Si el color azul es más intenso en la capa de nata que en la parte desnatada, se considera que la prueba es positiva. Si el color es igual o menos intenso en la capa de nata que en la descremada la prueba se considera negativa. (ALTON G. G., JONES L. M. 1976)

La prueba del anillo aplicada en un Rebaño

Cuando se recoge la leche en grandes recipientes conviene adaptar la prueba del anillo como objeto de compensar el factor de dilución en California (E.U.A) se adapta la prueba según el tamaño del rebaño de la siguiente forma:

Nº de animales 2 o más años	Volumen de leche tomada para la prueba
< 200	1ml
201- 500	2ml
501- 900	3ml

Si hay más de 900 cabezas de ganado se recomienda dividir el rebaño en grupos menores para el efecto de la recogida de leche para la prueba. Cuando se utiliza 2 o 3 ml de leche se realiza la prueba en tubos de 14x 100 mm se agrega a cada tubo una mezcla de nata negativa (0.01ml) y a continuación una gota (0.03ml) del antígeno. Después de mezclarlo, se

incuba y se interpreta los resultados del mismo modo que en la prueba antes descrita del anillo en la leche.

Prueba de ELISA

Últimamente se viene empleando la prueba de ELISA con gran sensibilidad y especificidad, para descubrir anticuerpos en leche y en suero. ELISA se ha usado también para descubrir antígenos de Brucellas en la descarga vaginal (Nicolet., 1986; Merck y col., 2000).

La técnica consiste en:

- ❖ Diluir controles 1/10 microlitros y las muestras 2+ 180 microlitros.
- ❖ Traspasar sueros a placas pretapizadas a una cantidad de 50 microlitros y adicionar mas 50 Microlitos, agitar durante 5 min. y dejar 30 min. de incubación a temperatura ambiente, luego lavar la placa con agua destilada cuatro veces.
- ❖ Adicionar conjugado a una cantidad de 100 microlitros, dejar 30 min. de incubación a temperatura ambiente, luego lavar la placa 4 veces con agua destilada.
- ❖ Adicionar sustrato a una cantidad de 100 microlitos, dejar durante 10 min. de incubación a temperatura ambiente.
- ❖ Adicionar solución stop a una cantidad de 50 microlitros.
- ❖ Leer la reacción dentro de 15 min. Pos stop, emplear filtro de luz de 450nm. Laboratorio de Investigación y Diagnóstico Veterinario (LIDVET., 1992).

2.14. DIAGNOSTICO DIFERENCIAL

Enfermedades bacterianas

La leptospirosis, que produce aborto generalmente en las últimas fases de la gestación y los síntomas se confunden con los del aborto bruceloso, solo se diferencia por laboratorio.

La Listeriosis, produce abortos esporádicos en el último tercio de la gestación acompañada de graves metritis que evolucionan septicémicamente, hay necrosis exudación purulenta en las vellosidades coriales.

Campilobacteriosis, los abortos ocurren en el quinto o sexto mes de la gestación y son menos frecuentes que los abortos producidos por la brucelosis.

Enfermedades Víricas

La rinotraqueitis infecciosa bovina, produce aborto en el último trimestre de la gestación o partos prematuros con terneros débiles.

Aborto epizoótico (beesoniasis) los cotiledones suelen presentarse amarillos hay atonía en el parto y falta de relajación vulvar y vaginal el feto presenta edema subcutáneo especialmente en la región faríngea. (Bruner y col., 1992).

Protozoos

La tricomoniasis, provoca aborto entre el segundo y cuarto mes de la gestación, el feto aparece macerado y la vaca tiene derrames uterinos purulentos y suele quedar estéril (Bruner y col., 1970).

La toxoplasmosis, provoca abortos que se pueden clasificar como partos prematuros, los terneros afectados congénitamente presentan fiebre, disnea, tos, estornudos, secreción nasal, secreciones crónicas, rechinar de dientes y temblor de cabeza y cuello, La placenta presenta cotiledones negruscos con nódulos blanquecinos de pequeño tamaño caseoso y calcificado (Blood y col., 1992).

Hongos

Los hongos también pueden producir abortos en el ganado bovino generalmente al final de la gestación, con lesiones que se confunden con la Brucelosis, los fetos presentan lesiones dermatológicas sobre la piel, en ojos , dorso, en regiones prominentes producidas por agentes micóticos como *Aspergillus*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Absidias* y otros (Blood y col., 1992).

2.15. TRATAMIENTO

Los tratamientos prolongados con altas dosis de antibióticos a los animales domésticos infectados no son utilizados debido a que pueden aparecer vestigios en los alimentos y además, pueden interferir en la producción de derivados de la leche. Además, como las Brucellas son bacterias intracelulares facultativas, se pueden producir recrudescimientos de la enfermedad después de los tratamientos.

Hasta la fecha no existen medicamentos que sean eficaces para curar la Brucelosis. El tratamiento está prohibido por ley en los países en que ha tenido éxito la lucha contra la enfermedad. Como no se conoce en tratamiento práctico, los esfuerzos se dirigen al control, mediante la vacunación preventiva y medidas sanitarias que respondan a la cadena de abortos (Merck y col.2000; Nicolet, 1986).

2.16. PROFILAXIS

Como medida preventiva la higiene juega un papel importante que incluye aislamiento o sacrificio de los animales infectados, la incineración de la placenta y fetos abortados y la desinfección de áreas o regiones contaminadas.

Todo animal bovino, ovino, caprino, equino y suino nuevos al ingresar a la granja deben ser sometidos a las pruebas correspondientes. (Hutyra y col., 1973)

Una legislación apropiada es necesaria para el control y la erradicación de la brucelosis. Los rodeos sospechosos deben ser inspeccionados a intervalos regulares hasta que todos los animales resultan negativos. Los animales positivos, deben ser removidos del rodeo. En áreas donde la brucelosis es endémica, solamente la vacunación controlará la enfermedad. La vacunación reduce el número de animales infectados permitiendo el eventual control de la enfermedad. Las vacunas en uso se basa en la Cepa 19 de *Brucella abortus* vivas y en menor importancia, la cepa vacunal ***Brucella abortus*** 45/20 compuesta por organismos muertos en adyuvante (bacterina). En la última década, se ha desarrollado una nueva vacuna contra Brucelosis denominada cepa RB51. (www.fao.org/ag/againfo/subjects/es/health/diseases-cards/brucellosi-ov.html)

2.17. VACUNAS E INMUNIDAD

INMUNIDAD NATURAL

Los terneros infectados por útero o por contagio después del nacimiento generalmente permanecen infectados solo por un corto tiempo, a menos que se le críe con leche afectada o se mantenga en un ambiente infectado. El animal que ha abortado alguna vez o que se ha infectado en estado adulto, aun sin abortar no adquiere fácilmente la infección por segunda vez. Eso indica el desarrollo de un grado de inmunidad como resultado de la primera infección, a menudo esta inmunidad no es tan intensa como para prevenir un segundo o tercer aborto (Bruner y col., 1970).

VACUNAS

Para la prevención de esta enfermedad se cuenta con dos tipos de vacuna, la **Cepa 19** y la **Cepa RB 51**. La primera ha sido la vacuna tradicional contra la brucelosis bovina, sin embargo, presenta una limitante: deja a los animales con una señal serológica que enmascara el diagnóstico, por lo que debe aplicarse sólo a terneras entre 3 y 8 meses de edad.

La Cepa RB 51 es una vacuna recientemente desarrollada, la cual confiere la misma inmunidad que la Cepa 19, pero no deja señales serológicas y, por ello, se puede usar en la edad en que el animal es más susceptible a contraer la enfermedad.

Cepa 19 de brucella abortus

Esta vacuna ha sido objeto de numerosos ensayos de campo, no solo en los Estados Unidos de América, sino también en casi toda la totalidad de los países. En un cultivo viable de una cepa que resultó ser de baja virulencia para los cobayos y el ganado vacuno, pero que poseía excelentes propiedades de inmunización. La cepa 19 es una variedad lisa, aglutinógena de ***Brucella abortus***. No esta desprovista de virulencia por completo. Los cobayos son susceptibles a infectarse pero las lesiones que desarrollan son mínimas o nulas y en el organismo desaparece totalmente de los tejidos sin dejar lesiones reconocibles. Las vacas preñadas pueden abortar cuando se inocular con grandes dosis de cepa 19. En estos casos, los organismos de la vacuna pueden encontrarse sin dificultad en las membranas fetales y en el mismo feto. El resto del ganado es susceptible al estar en contacto con las vacas que han abortado como resultado de la vacunación con la cepa 19 no llegan a infectarse. La **vacuna cepa 19 se aplica en terneras de 3 a 8 meses de edad** en forma de una sola inyección aplicada vía subcutánea. Esta vacuna no debe usarse en los terneros machos, por que en realidad se puede provocar la infección y afecta la fertilidad del animal. Las aglutininas empiezan a aparecer alrededor de unos 10 días después y aumentan a su máximo alrededor de los 2 o 3 meses, después de lo cual los títulos sanguíneos disminuyen. En el 90% de los animales, después de 12 meses los títulos están por debajo de los niveles diagnósticos. Por la época en que las vaquillas dan a la luz sus primeros terneros, casi todas son negativas a las pruebas de seroaglutinación. La inmunidad conferida por vacunación no es absoluta, sin embargo es lo bastante intensa para proteger a los animales gestantes jóvenes a través del periodo de mayor susceptibilidad para la enfermedad. La vacunación de las terneras con cepa 19 se practica con gran amplitud en muchas partes del mundo y ha contribuido de manera considerable a

disminuir los daños causados por la Brucelosis en el ganado (Bruner y col., 1970).

LA VACUNA RB-51

La Cepa RB-51 se desarrolló al principio de la década del 80. Una vez desarrollada, se hizo un chequeo extenso acerca de sus características utilizando ratones.

La cepa RB51 es una variante rugosa de la ***Brucella abortus***, esto significa que no contiene la cadena O en su superficie. Esta característica la hace diferir de la cepa 19 tradicionalmente usada, en el hecho de no tener antígenos de superficie y por lo tanto no generar aun complicaciones repetidas, anticuerpos que enmascaran el diagnóstico serológico. Por lo tanto los sueros de animales vacunados con RB51 no muestran reacción positiva a las pruebas diagnósticas convencionales de la brucelosis evitando así falsos positivos. La edad de vacunación óptima es de 5 a 8 meses en terneras de una dosis de 2 ml por animal por vía subcutánea, los machos no se vacunan, se puede revacunar a las hembras unas 2 o 3 semanas antes del servicio con el fin de aumentar la inmunidad (www.con.setabol,2000 *Brucella Abortus RB-51*. Buenos Aires, Argentina.)

Estos estudios claramente indicaron que la cepa tenía la capacidad de proteger a los animales contra la infección con *Brucella*, no inducía respuestas serológicas que interfirieran con el diagnóstico de la enfermedad, incluso cuando se aplicaba múltiples veces, era más atenuada que la Cepa 19 y era estable (no revertía a formas más virulentas incluso si se hacían pasajes de un animal a otro).

Se comprobó que era 100% estable y más atenuada que Cepa 19.

Con estos datos y un estudio acerca de los claros beneficios económicos que se obtenían con su uso, se decidió adoptarla como vacuna oficial en Marzo de 1996 en los Estados Unidos, mientras que el uso de la Cepa 19 fue prohibido.

Resumen de las principales características de RB-51

- ❖ Cepa rugosa, que impide la aparición de serología positiva al vacunar o revacunar.
- ❖ No induce serología que interfiera con el diagnóstico.
- ❖ Más atenuada que Cepa 19 (al vacunar animales preñados causa menos abortos).
- ❖ Más segura para el vacunador.
- ❖ Permite la revacunación de los animales a cualquier edad y múltiples veces.
- ❖ Induce niveles de protección similares a Cepa 19 al aplicarla una vez.
- ❖ La revacunación aumenta la inmunidad del animal individual y la del rodeo en general.

En resumen, el uso de Cepa RB-51 ahorra dinero, elimina la discusión acerca de los casos sospechosos que se originan con la vacunación de Cepa 19, permite la revacunación y es efectiva. (www.imperiorural.com.ar/imperio/imagenes/razaternero.jpg&imgrefurl=http://www.imperiorural.com.ar/imperio/estructura/miriam%2520archivos/Bovinos/brucelosis_bovinos_ganaderia.htm&h=134&w=325&sz=6&hl=es&start=11&tbnid=6eksuHWu5aFWXM:&tbnh=49&tbnw=118&prev=/images%3Fq%3Dfotos%2Bde%2Banimales%2Bcon%2Bbrucelosis%26svnum%3D10%26hl%3Des%26lr%3Dlang_es%26sa%3DN).

Existen otras vacunas contra la brucelosis que ya no son empleadas en la actualidad entre ellas tenemos:

- **Cepa 45/20 Mcewen y Priestly de Brucella Abortus**
- **La vacuna “M” de Huddenson** (Bruner y col., 1970).

2.18. CONTROL Y ERRADICACION

La Vacunación es empleada como un medio de control eficaz. La reducción en el número de reactores en un rebaño se relaciona directamente con el porcentaje de animales vacunados. Sin embargo, cuando se sigue de un programa de control a uno de erradicación es necesario instituir un programa de prueba y sacrificio. En áreas enzooticas con alta prevalencia se recomienda la vacunación.

El objetivo principal de un programa de vacunación sistemática y obligatoria de terneros en una zona o un país es decir la tasa de infección y obtener rebaños resistentes a la Brucelosis para luego poder emprender la erradicación. (Merchant y Parker 1970).

Cuatro grupos de líneas acciones principales:

Acciones de vigilancia a) En ferias y mataderos chequeando con prueba Rosa de Bengala a todos los animales susceptibles sobre 18 meses de edad. b) En predios lecheros mediante prueba de Ring Test.

Acciones de saneamiento de los predios infectados mediante: a) Vacunación de rebaño completo con cepa RB51 para lograr una rápida inmunidad. b) Programa de diagnóstico serológico del rebaño y eliminación de animales reactivos. c) Medidas de manejo aplicadas en el rebaño para disminuir la exposición a *Brucella abortus* de los animales susceptibles.

Acciones de Inmunización de terneras en predios negativos. Es importante hacer notar que el año 1997 en Chile se cambió el uso de vacuna Cepa 19 por Vacuna RB51, cuya principal ventaja es que no produce anticuerpos que puedan alterar el diagnóstico de Brucelosis. Se expende en farmacias veterinarias a médicos veterinarios acreditados. (<http://www.inta.gov.ar/esquel/info/documentos/animal/bruselosis.htm>)

2.19. LA ENFERMEDAD EN EL HOMBRE

La Brucelosis humana presenta manifestaciones clínicas muy polimorfas, siendo muchas de ellas asintomáticas. La Brucelosis aguda típica se manifiesta como una enfermedad febril de inicio agudo, con sudoración profusa, desproporcionada a la fiebre existente y de predominio nocturno, con algias de localización articular (sin artritis), musculares o neurológicas. La fiebre, sudoración y las algias constituyen la tríada clásica de la Brucelosis aguda. En el curso de la evolución pueden presentarse síntomas focales (orquiepididimitis, sacroileítis y espondilitis, e incluso bursitis y tenosinovitis). Otras focalizaciones pueden ser la aparición de

granulomatosis hepática y la neumopatía brucelar. La afectación del sistema nervioso central y la endocarditis son las complicaciones más graves de la enfermedad.

La brucelosis tiene una marcada tendencia a producir recidivas, más frecuentes durante los tres primeros meses y en los casos sin tratamiento, pero que pueden ocurrir también tras terapia adecuada. En algunos pacientes, las consecuencias de la enfermedad se prolongan durante años, dando lugar a la "brucelosis crónica", de difícil delimitación, con artralgias, impotencia funcional musculoesquelética, parestesias y alteraciones neurovegetativas. Así pues, la Brucelosis es una enfermedad con una extraordinaria variedad de formas de presentación, pudiendo manifestarse como bacteriana asintomática, síndrome infeccioso inespecífico o bien cuadros focales con o sin síntomas sistémicos. La sospecha clínica y el diagnóstico de brucelosis, habituales y fáciles en zonas endémicas, son infrecuentes y, por tanto, raramente incluidos entre los diagnósticos diferenciales en aquellas zonas con tasas de morbilidad muy bajas, donde a veces se llega al diagnóstico cuando el proceso está muy evolucionado. (<http://epi.minsal.cl/epi/html/public/brucelosis.html>)

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LOCALIZACIÓN DEL ÁREA DE TRABAJO

En el presente trabajo de investigación se realizó en el Municipio de Roboré perteneciente a la Provincia Chiquitos del Departamento de Santa Cruz, ubicada a 440 Km. al Este del Departamento y con una latitud Sur $18^{\circ} 19'$ y $059^{\circ} 46'$ Oeste. (ASANA 2006). (Ver anexos 2,3,4,5).

Roboré tiene un clima tropical, encontrándose a una altitud promedio de 233 m.s.n.m cuya temperatura promedio es de 27°C . la precipitación anual es de 1143.62 mm y una humedad relativa promedio de 65 %. Limita al Norte con la Provincia Ángel Sandoval, al Sur con la Provincia Cordillera al Oeste con la Provincia Velasco y al Este con la Provincia Germán Busch. (ASANA – ROBORÉ; ASOGAR 2006). (Ver anexo 5 y foto 5).

3.2. MATERIAL

- Tubos Vacutainer.
- Tubos de ensayo 13x100 mm
- Agujas Vacutainer.
- Adaptadores Vacutainer
- Antígeno Bufferado (Laboratorio Sanidad Ganadera Argentina, SENASA, lote 53, fecha de expiración 08/2007)
- Aglutinoscópico
- Placa de vidrio
- Suero sanguíneo.
- Leche.

- Estufa Bacteriológica
- Goteros
- Espátulas.
- Protocolo (Ver anexo 1).

3.3. UNIDAD DE MUESTREO

Para realizar el presente trabajo de investigación se determinó el tamaño de la muestra en base al registro de la Asociación de Ganaderos de Roboré (ASOGAR) y la Asociación de productores de leche de Roboré (ADEPLER), presentando una población aproximada de 350 bovinos de leche. Haciendo un total de 16 establecimientos lecheros. El número de muestras se calculó según la fórmula para estimar una prevalencia con 50 % de prevalencia probable con 5% de precisión y 95% de confianza, el número total de animales a ser muestreado fue de 183. (Ver anexo 6 y 7).

3.4. MÉTODOS

3.5. MÉTODOS DE CAMPO

Las muestras de sangre se obtuvieron mediante la punción de la vena coccígea de la que se extrajo de 3 a 5 ml. de sangre de los animales a que fueron escogidos al azar. Para esto se utilizó tubos y agujas Vacutainer individuales donde se depositó la sangre, que se conservó en refrigeración y se envió al laboratorio de SENASAG Roboré. (Ficha anexo 1 y fotos 1, 2).

Las muestras de leche se obtuvieron mediante la recolección en los tachos de leche de cada productor, se sacó cierta cantidad de leche y se

las depositó en bolsitas individuales y se las envió al laboratorio SENASAG- Roboré.

3.6. METODOS DE LABORATORIO

La técnica que se utilizó para el diagnóstico de brucelosis fue la prueba de seroaglutinación rápida con antígeno bufferado (ver foto 3) y la prueba del anillo en la leche, los sueros que reaccionaron de forma positiva fueron enviados a LIDIVET para su confirmación mediante la prueba de ELISA. El procedimiento de la técnica de lectura e interpretación de la misma se realizó de acuerdo a las normas estandarizadas por el comité de expertos en brucelosis (OPS/OMS Y OIE, 1999).

La prueba del anillo de leche se realizó utilizando 1 ml de leche de cada productor depositándolas en tubos de ensayo (11x 100 mm.). Se agregó una gota (0,03 ml) del antígeno de la prueba del anillo (antígeno azul, teñido por hematoxilina) mezclando suavemente y dejándolas en reposo durante 1 min. Se incubó las muestras a 37° C durante 1 hora y se realizó la lectura. De las 16 muestras analizadas una resultó de forma positiva. (ALTON. G., JONES L. M. 1976)

3.7. METODOS ESTADISTICOS

Los resultados obtenidos fueron sometidos a un análisis estadístico con una estimación de la prevalencia con un intervalo de confianza al 95% según la fórmula de THRUSFIELD para estimar la prevalencia cuando no se detecta ningún caso de positivo.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

DIFUSION

En la prueba realizada del anillo en la leche hubo reacción positiva en una propiedad, pero no fue posible la toma de muestras individuales en los animales de dicha propiedad por la no autorización del propietario. Como se podrá observar existe brucelosis en dicho municipio. (Cuadro 1)

PREVALENCIA

De un total de 183 muestras de suero sanguíneo analizadas, la prevalencia de la brucelosis bovina en el área lechera del Municipio de Roboré Prov. Chiquitos Dpto. Santa Cruz, es 0, % de positivos, con un intervalo de confianza al 95% de 0% - 1,08% (Cuadro 2).

Comparando nuestros resultados con otros trabajos realizados en otras áreas del Dpto. de Santa Cruz en los últimos años el porcentaje de positividad es inferior a los trabajos realizados por:

- ❖ Parada (2000) en el cantón Portachuelo, de 2438 animales muestreados encontró 2.5% de positivos, utilizando la prueba bufferada como tamiz y como confirmativa ELISA.
- ❖ Martínez (2001) en el cantón Portachuelo de 2278 animales muestreados encontró un 2.06% de positivos utilizando la prueba bufferado como tamiz y como confirmativa ELISA.
- ❖ Vargas (2004) en el cantón de Santa Rosa, de 296 animales muestreados encontró un 10.47% de positivos utilizando la prueba bufferada como tamiz y como confirmativa la prueba lenta en tubo.

- ❖ Melean (2004) en las prov. Andrés Ibáñez, Warnes, Obispo Santisteban y el municipio de Portachuelo, de 881 animales muestreados encontró 1.24% de positivos utilizando la prueba bufferada como tamiz y como confirmativa ELISA.

Trabajos realizados en otros distritos:

Segovia (2000) 0.50% en CBBA, Salguero (2000) 0% en CBBA, Navarro (2001) 3.69% SCZ Central, Soria (2001) 8.75% en Tarija, Larico (2001) 0% en La Paz, Choque (2001) 0 % en La Paz Camacho (2003) 0.2% Chuquisaza.
(APODACA C.F. 2004)

EDAD

Se tomaron muestras a 21 animales de 1- 3.11años, 143 de 4 – 9.11 años, 19 de 10 años o más, de los cuales todos resultaron 0 % positivos. (Cuadro 3).

RAZA

Se tomaron muestras a 80 Mestizos, 33 Criollos, 22 Holandos, 31 Pardos, 5 Jersey, 5 Gyr-Holando y 7 Gyr. de los cuales todos resultaron 0 % positivos. (Cuadro 4).

SEXO

De los 183 animales muestreados 174 fueron hembras y 9 machos, de los cuales todos resultaron 0 % positivos. (Cuadro 5).

CATEGORIA

Se tomaron muestras de 161 vacas, 13 vaquillas y 9 toros, de los cuales todos resultaron 0 % positivos. (Cuadro 6).

LOCALIDAD

De todas las localidades se muestrearon 52 animales en Roboré Central, 77 en Roboré Sur, 12 en Santiago, 10 en Santiagoma, 9 en Limones y 23 en Chochis, de los cuales todos resultaron 0% positivos. (Cuadro 7).

CUADRO 1

**GRADO DE DIFUSION DE LA BRUCELOSIS BOVINA EN EL SECTOR
LECHERO DEL MUNICIPIO DE ROBORÉ, PROV. CHIQUITOS, DPTO.
DE SANTA CRUZ
MEDIANTE LA PRUEBA DEL ANILLO EN LA LECHE
(Septiembre- octubre 2006)**

ORDEN	PROPIEDAD	UBICACION	RESULTADO
1	EL PARAISO	ESTE DE ROBORÉ	NEGATIVO
2	EL GOLFO	SUR DE ROBORÉ	NEGATIVO
3	SAN JORGE II	OESTE DE ROBORÉ	NEGATIVO
4	VIRGEN DE COTUCA	SUR DE ROBORÉ	NEGATIVO
5	SOL DE MAYO	SUR DE ROBORÉ	NEGATIVO
6	TROPICAL	SUR DE ROBORÉ	POSITIVO
7	LA CORUÑA	OESTE DE ROBORÉ	NEGATIVO
8	SAN MARTIN	SANTIAGOMA	NEGATIVO
9	SAN MARTIN	SUR DE ROBORÉ	NEGATIVO
10	HOGAR SAN FRANCISCO	SUR DE ROBORÉ	NEGATIVO
11	F.A.B	OESTE DE ROBORÉ	NEGATIVO
12	EL PANTANAL	SUR DE ROBORÉ	NEGATIVO
13	LA COLONIA	SUR DE ROBORÉ	NEGATIVO
14	LIMONES	OESTE DE ROBORÉ	NEGATIVO
15	CHOCHIS	OESTE DE ROBORÉ	NEGATIVO
16	PANORAMA	ESTE DE ROBORÉ	NEGATIVO

Con un porcentaje de 6.25% de positivos

CUADRO 2**PREVALENCIA DE LA BRUCELOSIS BOVINA EN EL MUNICIPIO DE
ROBORÉ, PROV. CHIQUITOS, DPTO. DE SANTA CRUZ
(Septiembre- octubre 2006)**

Nº TOTAL DE MUESTRAS	POSITIVOS		I.C. 95%
	Nº	%	
183	0	0.00	0.00- 1.08

CUADRO 3**BRUCELOSIS BOVINA POR EDAD****(Septiembre- octubre 2006)**

EDAD	MUESTRAS		POSITIVOS		I.C. 95%
	Nº	%	Nº	%	
1- 3.11 Años	21	11.47	0	0.00	0.00 – 1.84
4- 9.11 Años	143	78.14	0	0.00	0.00 – 1.11
>10 Años	19	10.38	0	0.00	0.00 – 1.91
TOTAL	183	100	0	0.00	

CUADRO 4

BRUCELOSIS BOVINA POR RAZA

(Septiembre- octubre 2006)

RAZAS	MUESTRAS		POSITIVOS		I.C. 95%
	Nº	%	Nº	%	
MESTIZO	80	43.71	0	0.00	0.00 – 1.21
CRIOLLO	33	18.03	0	0.00	0.00 – 1.53
HOLANDO	22	12.02	0	0.00	0.00 – 1.81
PARDO	31	16.94	0	0.00	0.00 – 1.56
JERSEY	5	2.73	0	0.00	0.00 – 4.57
GYR	7	3.82	0	0.00	0.00 – 3.52
GYR-HOLANDO	5	2.73	0	0.00	0.00 – 4.57
TOTAL	183	100	0	0.00	

CUADRO 5
BRUCELOSIS BOVINA POR SEXO
(Septiembre- octubre 2006)

SEXO	MUESTRAS		POSITIVOS		I.C. 95%
	Nº	%	Nº	%	
HEMBRAS	174	95.08	0	0.00	0.00 – 1.07
MACHOS	9	4.92	0	0.00	0.00 – 2.96
TOTAL	183	100	0	0.00	

CUADRO 6
BRUCELOSIS BOVINA POR CATEGORIA
(Septiembre- octubre 2006)

CATEGORIA	MUESTRAS		POSITIVOS		I.C. 95%
	Nº	%	Nº	%	
VACAS	161	87.98	0	0.00	0.00 – 1.10
VAQUILLAS	13	7.10	0	0.00	0.00 – 2.37
TOROS	9	4.92	0	0.00	0.00 – 2.96
TOTAL	183	100	0	0.00	

CUADRO 7
BRUCELOSIS BOVINA POR LOCALIDAD
(Septiembre- octubre 2006)

LOCALIDAD	MUESTRAS		POSITIVOS		I.C. 95%
	Nº	%	Nº	%	
ROBORÉ- CENTRAL	52	28.43	0	0.00	0.00 – 1.32
ROBORÉ- SUR	77	40.09	0	0.00	0.00 – 1.21
SANTIAGO	12	6.56	0	0.00	0.00 – 2.47
SANTIAGOMA	10	5.47	0	0.00	0.00 – 2.96
LIMONES	9	4.92	0	0.00	0.00 – 2.96
CHOCHIS	23	12.58	0	0.00	0.00 – 1.77
TOTAL	183	100	0	0.00	

V. CONCLUSIÓN Y RECOMENDACIONES

La prevalencia de la brucelosis bovina en la región estudiada es de 0% con un intervalo de confianza al 95% de confiabilidad 0% - 1,08% (Cuadro 2).

El tipo de explotación que se practica en el área de estudio es Extensiva, lo que favorece la no diseminación de la enfermedad, por las características epidemiológicas de la misma.

Este trabajo es de gran importancia y puede ser aprovechado para completar informaciones ya existentes en el mapa epidemiológico del municipio de Roboré para la prevención de esta enfermedad y lograr que los hatos se mantengan libres de brucelosis.

Los resultados del presente trabajo de investigación se hizo llegar a la Asociación de Ganaderos de Roboré (ASOGAR) para que tomen medidas correspondientes y que los productores de los hatos libres continúen con el esfuerzo en mantener sus unidades libres de la brucelosis.

Se otorgó una certificación a todos los propietarios de las unidades muestreadas reconocida por ASOGAR y por SENASAG- Roboré, de que los animales muestreados se encuentran libres de Brucelosis.

En caso de aparición de la enfermedad es obligación de informar a la OIE para seguir la cadena de bioseguridad que comprende dicho organismo para la preservación de lo que es el código sanitario y preservación de la salud pública.

Se notificó a SENASAG sobre el caso positivo de brucelosis mediante la prueba del anillo en la leche, para que dicha institución pueda tomar las medidas correspondientes sobre el caso.

Se recomienda a los productores a no introducir animales a sus hatos sin antes haber sometido a estos a pruebas de rigor y una cuarentena necesaria para mantener libres sus unidades de esta enfermedad. Mantener un control mediante la vacunación de los animales entre 3 a 8 meses de edad.

SENASAG nos indica la necesidad de establecer como norma la realización de pruebas periódicas mínimamente una vez al año.

Orientar, educar a la población en su conjunto sobre la temática, tanto desde el punto de vista de las pérdidas económicas que produce como por las repercusiones en el campo de salud pública.

VI. BIBLIOGRAFÍA

- ACHA, N.; SZYFRS, 1988.** Zoonosis y enfermedades Transmisibles comunes al hombre y a los animales.2. ed. Washington D.C., EUA. Organización Panamericana de la Salud. pp. 14 - 35.
- ALTON G. G., JONES L. M. 1976.** Las técnicas de laboratorios en la Brucelosis, segunda edición , organización mundial de la salud, Ginebra , pp. 126-134.
- APODACA C.F. 2004.** Situación de la Brucelosis Bovina en La cuenca Lechera, Cantón Portachuelo de la Provincia Sara del Departamento de Santa Cruz. Tesis de Grado. U.A.G.R.M. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. pp. 1- 48.
- BLOOD, J. A.; RADOSTITIS, D. M. 1992** Medicina Veterinaria . A. P. E.U.A. pp. 729- 750
- BLOOD, D .C Y HENDERSON 1987** Medicina Veterinaria. Tomo II. Nueva Editorial Interamericana. México D. F .México pp. 522 – 534.
- BRUNNER . D. W. ; GILLESPIE, 1970.** Enfermedades infecciosas de los Animales domésticos. Fomnien. México D.F. México. pp. 259- 278.
- BURROWS, W. ;1974 .** Tratado de Microbiología . 10 ed. Interamericana. México D.F. , México pp. 472 - 480

COMITÉ MIXTO FAO/OMS DE ESPERTOS EN BRUCELOSIS, 1986

Organización mundial de la Salud. Traducido por la Organización Panamericana de la Salud. España. Pp. 46-89.

CASTRO, L, 1995. Prevalencia de la Brucelosis bovina en la provincia Ichilo del departamento de Santa cruz. Tesis de Grado. Facultad de medicina Veterinaria y Zootecnia . p. 49.

ENSMINGER, M.E., 1968. Producción Bovina para carne. 2. ed. Buenos Aires , Argentina. pp.321-326.

FAO/OMS., 1972 Comité mixto de expertos en Brucelosis, Quinto informe, Organizaciones de las Naciones Unidas de la Agricultura y la Alimentación, Roma, p. 2.

FEDEPLE, 1996. Memorias de Asociación de Productores de leche sobre El control de Brucelosis Bovina en la cuenca lechera de Santa Cruz Bolivia. pp. 15-16.

GARCIA, C.; CARRILLO. 1987. La Brucelosis de los Animales en América y su relación con la Infección humana. Buenos Aires, Argentina. pp. 35-42.

HUTYRA, M.; MANNINGER, R., 1973. Patología Terapéutica Veterinaria De los Animales Domésticos . Tomo I, 3 ed. Labor, Barcelona- España. pp. 608-632.

LIDIVET, 1992. Laboratorio Diagnóstico Veterinario

MASCARO, A. L. 1975. Enfermedades infecciosas de los animales Domésticos. ed. Albatros. Buenos Aires - Argentina pp. 117- 133.

MERCK; MANUAL MERCK DE VETERINARIA. 2000 Un manual de Diagnóstico. Tratamiento. Profilaxis y control de las enfermedades para el Veterinario. 5 ed. Barcelona – España pp. 1119- 1122.

MERCHANT , I. A. ; PARKER, R. A. 1970. Bacteriología y Virología Veterinaria. 3 ed. Madrid - España. pp. 328 - 329

NICOLET, J. 1986. Compendio de Bacteriología Médica Veterinaria, Acribia S.A. Zaragoza - España. pp. 82- 142.

OPS/OMS, 1999. Cuarentena Animal y Enfermedades Cuarentenales. Terranova S.A. Washington D.C. EAU. pp. 138-142.

PIATKIN, K. D. ; KRIVOSHEIN, Y. S. 1989. Microbiología con Virología e Inmunología. Traducido de Ruso Por la Lic. Rudianok L.P. Mir. Moscú URSS. pp. 339 - 345

RAMACCIOTTI F., 1976 Brucelosis, Etiología / Epidemiología / Bosquejo Clínico /Diagnóstico / Terapéutica, 3ª edición, ediciones Olocco - Córdoba Argentina p. 7

THRUSFIELD M., 1990 Epidemiología Veterinaria Editorial Acribia S.A.,
Zaragoza - España pp. 191 - 205

<http://epi.minsal.cl/epi/html/public/brucelosis.html>.

[www.con.setabol,2000 Brucella Abortus rb51](http://www.con.setabol.com.ar/2000_Brucella_Abortus_rb51.html). Buenos Aires, Argentina.

www.fao.org/ag/againfo/subjects/es/health/diseases-cards/brucellosi-ov.html

www.imperiorural.com.ar/imperio/imagenes/razaternero.jpg&imgrefurl=http://www.imperiorural.com.ar/imperio/estructura/miriam%2520archivos/Bovinos/brucelosis_bovinos_ganaderia.htm&h=134&w=325&sz=6&hl=es&start=11&tbnid=6eksuHWu5aFWXM:&tbnh=49&tbnw=118&prev=/images%3Fq%3Dfotos%2Bde%2Banimales%2Bcon%2Bbrucelosis%26svnu m%3D10%26hl%3Des%26lr%3Dlang_es%26sa%3DN

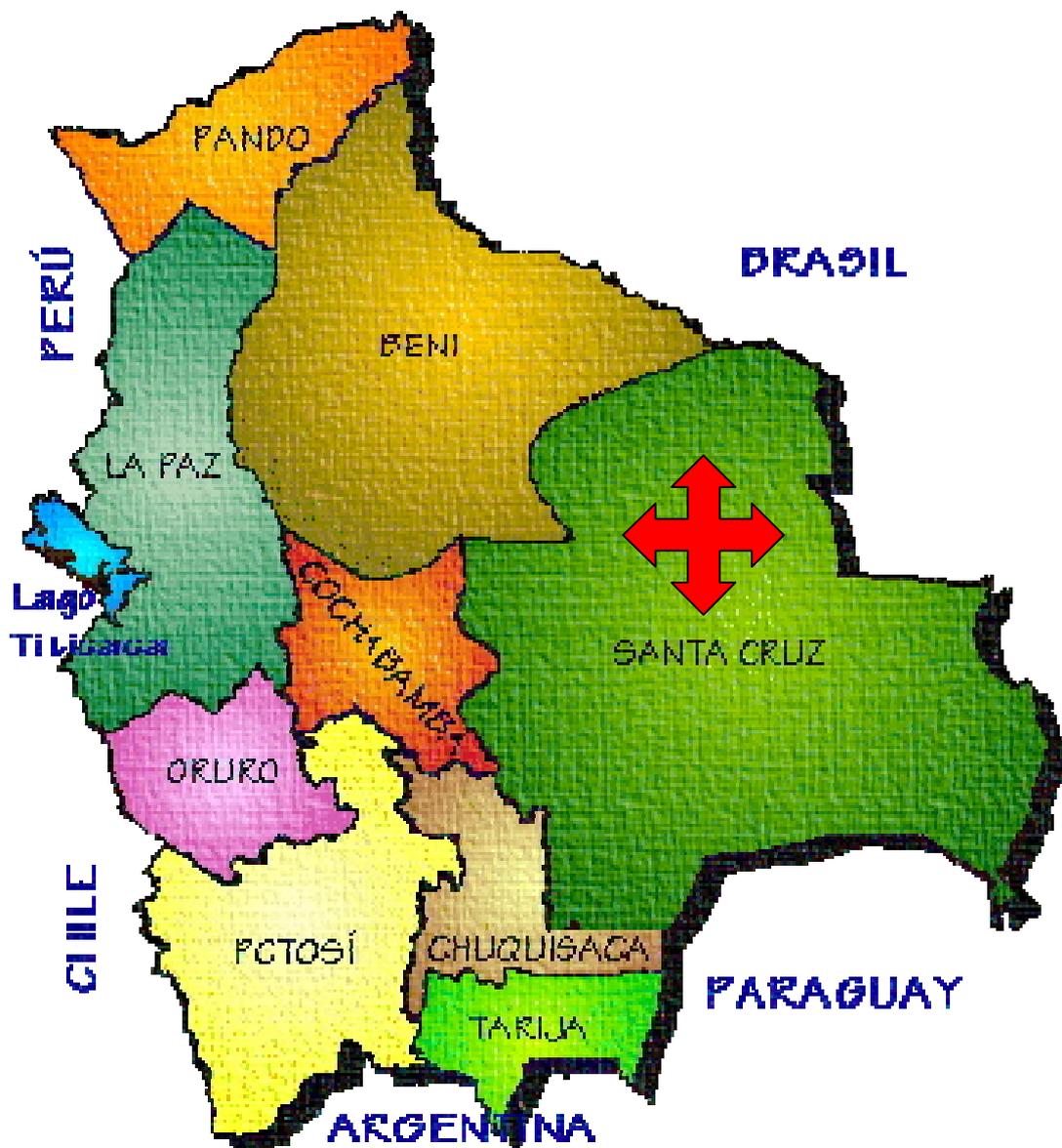
www.inta.gov.ar/esquel/info/documentos/animal/bruselosis.htm

www.misionrg.com.ar/brucelo.htm

www.salud.bioetica.org/brucelosis.htm

ANEXOS

Anexo 2. MAPA DE BOLIVIA



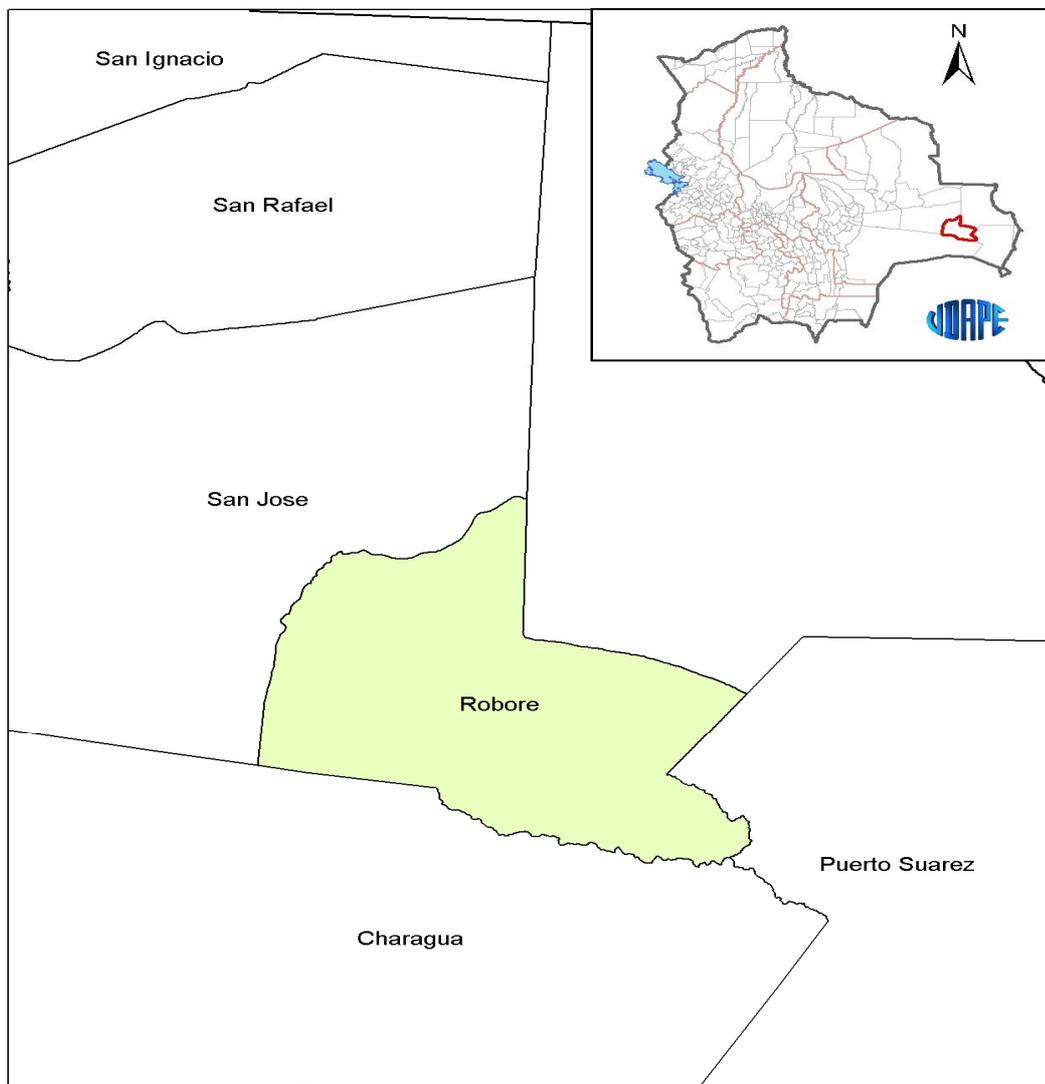
Anexo 3. MAPA DE SANTA CRUZ



Anexo 4. MAPA PROVINCIA CHIQUITOS



ANEXO 5. MAPA DEL MUNICIPIO DE ROBORÈ



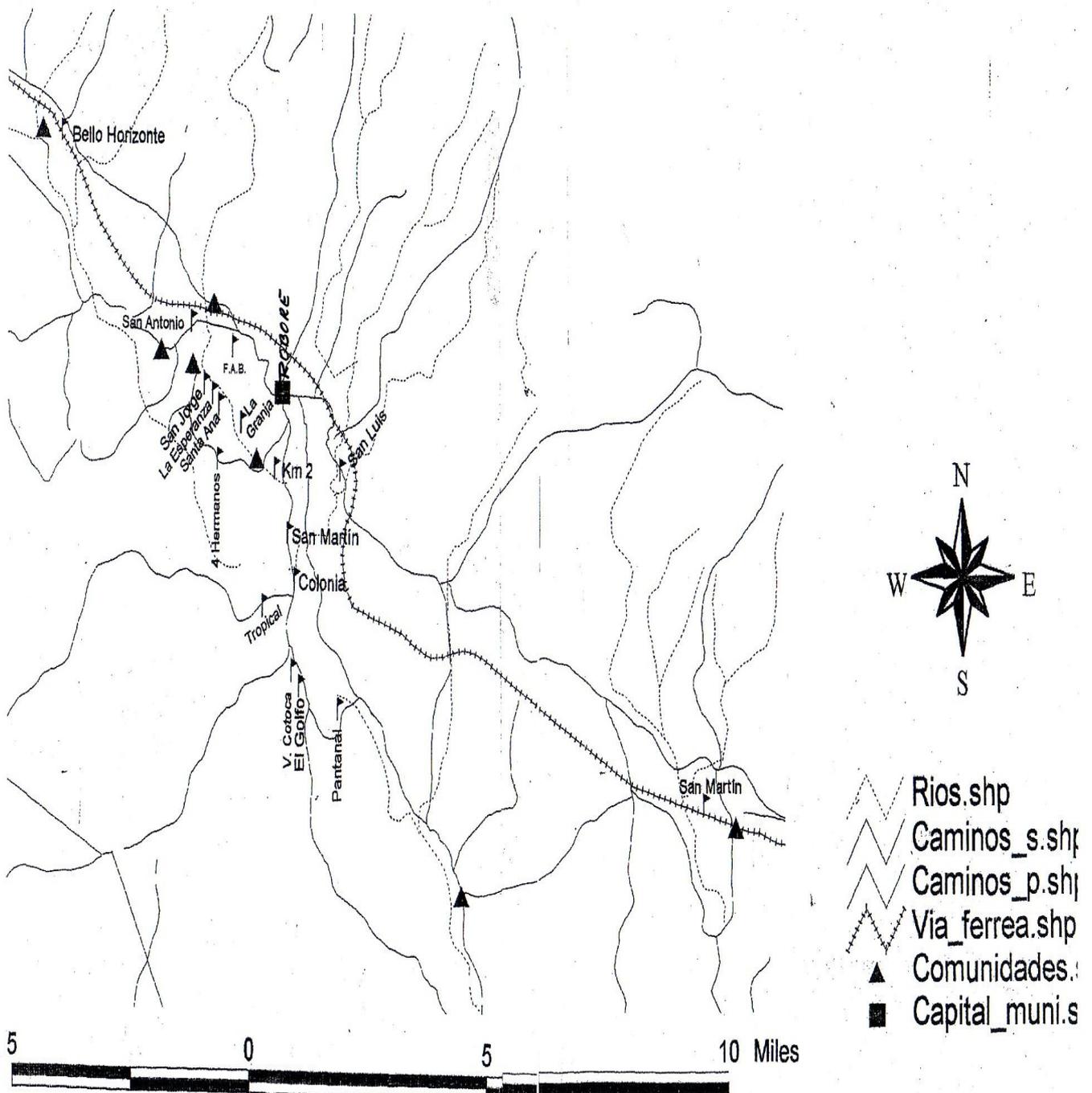
ANEXO 6.

Asociados de ADEPLER

Nº	Propietario	Comunidad	Distancia a la propiedad	Nº de animales
1	Hogar S. Francisco	Sur (Km. 2)	2 Km.	23
2	Godofredo Dorado	Sur (San Martín)	4 Km.	18
3	Rubén Insua	Sur (Sol de Mayo)	5 Km.	16
4	Aldo Dorado	Sur (Sucuará)	7 Km.	20
5	Leocadia Barba	Sur (Sucuará)	10 Km.	21
6	Mary Pacheco	Sur (Sucuará)	11 Km.	24
7	Groterhorst Horst	Sur (Sucuará)	13 Km.	22
8	Crnl. Torrico	Oeste (San manuel)	3 Km.	21
9	Leonardo Casia	Oeste (Limonos)	19 Km.	24
10	Sesamoto Benjamín	Oeste (Chochis)	38Km.	26
11	Alonso Aguilar	Este (Santiagoma)	15 Km.	25
12	Milton Witaker	Este (Santiago)	25 Km.	26
13	Santiago Rivas Castro	Noreste (La Toruna)	2Km.	23
14	Carlos Titzer	Oeste	2Km	22
15	Ignacio Poquiviqui	Oeste	2.5 Km	19
16	Julio César Díaz	Suroeste	3Km.	23
	Total		161 Km.	353

ANEXO 7. MAPA DEL AREA DE TRABAJO

LECHERIAS

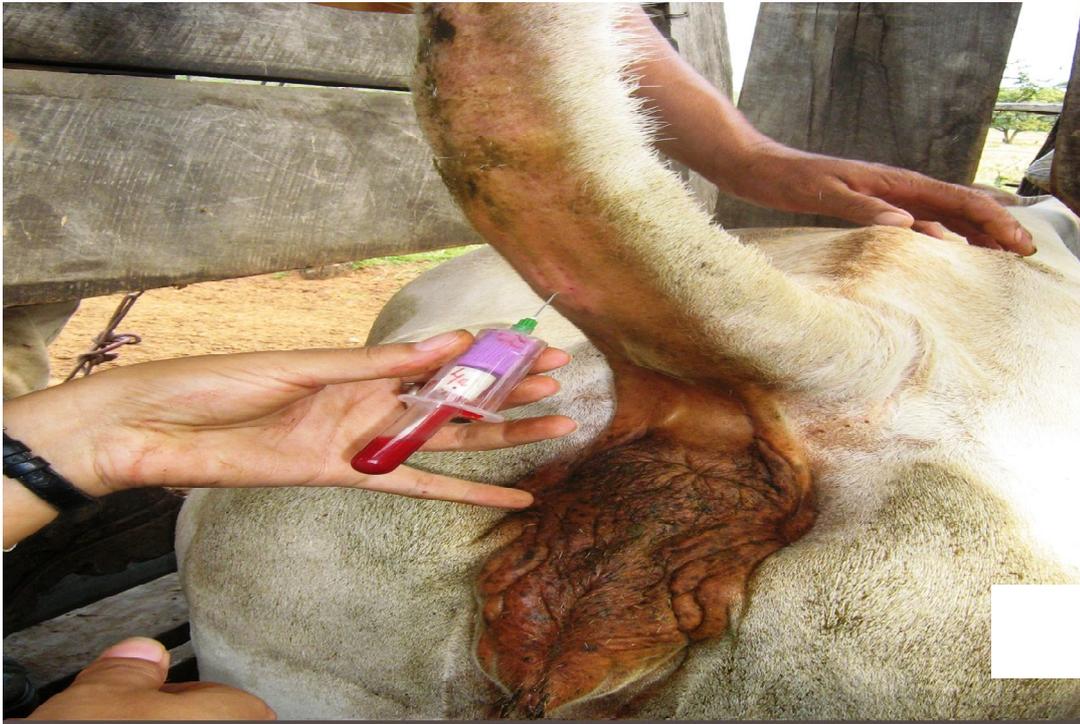


ANEXO 6.

Toma de muestra para la realización de la prueba BPA (Foto 1)



Obtención de la sangre mediante punción (Foto 2)



Realización de la prueba en el Laboratorio de SENASAG ROBORÉ
(Foto 3)



Culminación del trabajo de campo (Foto 4).



**PANORAMICA DE ROBORÉ CON EJEMPLARES Y TESISTA EN LA CULMINACIÓN DEL TRABAJO DE CAMPO.
(Foto 5).**

