



BRUCELOSIS CAPRINA

Carlos A. Robles, M.V. - M.Sc.

**Grupo de Salud Animal
Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria
Estación Experimental Agropecuaria Bariloche
CC: 277 (8400) Bariloche
Tel: 02944 - 422731
Fax: 02944 - 424991
email: crobles@bariloche.inta.gov.ar**

Título: Brucelosis caprina

Title: Brucellosis in goats

Autor de Textos y Fotos: Carlos Alejandro Robles

Médico Veterinario - Universidad Nacional de La Plata, Argentina.

M.Sc. Tropical Veterinary Medicine - University of Edinburgh, United Kingdom

1ra edición 2009

Editor: Carlos Alejandro Robles

Robles, Carlos Alejandro

Brucelosis caprina. 1a ed. - Bariloche: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria - INTA. Centro Regional Patagonia Norte. EEA Bariloche, 2009.

32 p.; 25x18 cm.

ISBN 978-987-521-355-5

1. Ciencias Veterinarias. 2. Sanidad Animal. 3. Enfermedades. I. Título
CDD 636.089

Reservados todos los derechos de la presente edición para todos los países. Este libro no podrá ser reproducido total o parcialmente por ningún método gráfico, electrónico, mecánico o cualquier otro, incluyendo sistemas de fotocopia y foto-duplicación, registro magnetofónico o alimentación de datos, sin expreso consentimiento del editor.

Hecho el depósito que prevé la ley 11.723

INDICE

INTRODUCCION.....	5
CARACTERÍSTICAS DEL AGENTE.....	6
PATOGENESIS DE LA INFECCIÓN.....	8
CLINICA Y PATOLOGIA	9
EPIDEMIOLOGIA.....	10
1. Como ingresa la Brucelosis a un establecimiento libre?	10
2. Como se disemina la infección una vez que ha ingresado al establecimiento?	12
3. Cómo se infecta un animal sano?	12
4. Cuáles son los factores que definen que un animal se enferme o no?	13
DIAGNOSTICO DE LA BRUCELOSIS CAPRINA	15
1. Diagnóstico Clínico	15
2. Detección de la Brucella en muestras biológicas	16
3. Detección de anticuerpos específicos	17
CONTROL DE LA BRUCELOSIS EN CAPRINOS	20
1. Incrementar la inmunidad de la población - Vacunas	20
2. Implementar un sistema de detección de los animales infectados con descarte de los mismos	23
3. Implementar medidas de manejo y de higiene a fin de disminuir la cantidad de bacterias en el medio ambiente	24
4. Mantener estable la producción y economía del establecimiento	25
ANEXO 1: Guía para la extracción de muestras de sangre y obtención del suero.....	26
ANEXO 2: Modelo de planilla de campo para registrar información del sangrado y revisión clínica del hato	30
BIBLIOGRAFIA PARA CONSULTA	31

INTRODUCCION

La Brucelosis caprina es una enfermedad infecto-contagiosa, crónica producida por *Brucella melitensis*, bacteria que fuera aislada por primera vez en 1887 por Bruce a partir de muestras de bazo de soldados enfermos en la isla de Malta. (Alton, 1990; Crespo León, 1993; Radostitis y col., 1994).

Brucella melitensis, tiene al caprino y al ovino como sus huéspedes naturales, pero al ser la especie de brucella más inespecífica del género, puede infectar una gran cantidad de otras especies animales y entre ellos al ser humano, siendo la causante de la Fiebre ondulante o Fiebre de Malta (Acha y Szyfres, 1986; Alton, 1990).

La brucelosis afecta fundamentalmente caprinos sexualmente maduros, siendo el principal síntoma en la hembra el aborto en el último tercio de la gestación y orquioepidimitis en el macho (Alton, 1990; Crespo León, 1993).

La enfermedad tiene una amplia distribución mundial, siendo endémica en todos los países europeos y africanos de la cuenca del Mediterráneo, países del Medio Oriente, Latinoamérica, centro y oeste de Asia y esporádicamente en países de África e India (Alton, 1990; Crespo León, 1993).

En la Argentina, si bien hay publicaciones respecto a la presencia de brucelosis en caprinos en diferentes regiones del país (Cedro y col, 1962; Camberos y Colina, 1977; Spath y col. 1979; Condron y col. 1980; González Tomé y col. 1995; Molina y col. 1997; De Gea y col. 1998; Russo y Monzón, 1998; Aguirre y col. 1999; Robles y col. 1999; Gaido y col. 2008) al presente no se tiene una idea clara sobre su distribución ni de su prevalencia según regiones o provincias.

Del análisis de los escasos trabajos publicados y la información surgida del procesamiento de muestras para diagnóstico enviadas a diferentes laboratorios del país, podría decirse que a excepción de la Región Patagónica, donde nunca se ha detectado la enfermedad en forma clínica o a través de análisis serológicos, *B. melitensis* estaría presente en el resto del país, con bajas prevalencias en el NOA y con prevalencias mayores en provincias como Mendoza, San Juan, La Rioja, Catamarca, Córdoba, etc.

De las provincias antes mencionadas Mendoza es la que más ha avanzado en el diagnóstico y control de la enfermedad. En un muestreo realizado en el departamento de Lavalle sobre 105 puestos de criadores de caprinos y 2050 cabras muestreadas resultaron un 42% de puestos infectados y un 12.5% de

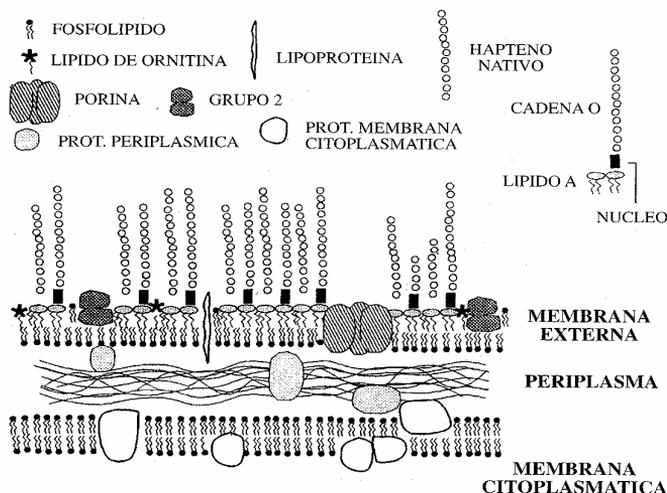
animales positivos al BPA (datos inéditos). Recientemente se realizó un relevamiento provincial, en el cual se procesaron 8377 muestras de suero pertenecientes a 566 puestos. El 28.1% de los establecimientos resultaron positivos con prevalencias a nivel de predio que variaron entre un 6.7% a un 80%. El 5.7% de los sueros procesados resultaron positivos a la prueba de BPA. Se encontraron grandes diferencias entre las 5 regiones en que fue dividida la provincia para dicho estudio. En esta misma provincia, se han recopilado datos sobre brucelosis humana, los cuales están en correlación con la presencia de la enfermedad en caprinos (Robles y Col, 2006).

CARACTERÍSTICAS DEL AGENTE

B. melitensis es un coco bacilo pequeño, Gram negativo del cual se conocen 3 biotipos (1, 2 y 3). El tamaño del genoma es de aproximadamente 3.1×10^6 pares de bases y esta organizado en 2 cromosomas. Esta bacteria tiene la habilidad de multiplicarse dentro de las células fagocitarias del sistema inmune de su huésped, lo cual está en estrecha relación con la estructura y fisiología de la bacteria.

Al igual que otras bacterias Gram negativas, además de la membrana citoplasmática, posee una compleja envoltura celular, compuesta por un espacio periplásmico y una membrana externa como puede apreciarse en forma esquemática en la figura 1.

Figura 1: Esquema de la estructura de la envoltura de *B. melitensis* donde puede observarse la distribución de los principales componentes de la misma (Adaptado de Moriyón y López Goñi, 1994).



Principales componentes estructurales de la membrana externa de *Brucella*

1. Lipopolisacárido (LPS) El LPS está compuesto por tres elementos: el Lípido A, el Núcleo y la Cadena O. Estos tres elementos se encuentran en la parte externa de la bacteria.

El LPS, básicamente su Cadena O, es la estructura que tiene características antigénicas por lo que es capaz de generar una respuesta inmune y es la que interviene en la reacción antígeno anticuerpo cuando se realizan las pruebas serológicas diagnósticas como el BPA, Rosa de Bengala, ELISA, etc.

El hecho de que el LPS sea una estructura presente no solo en las *Brucellas* lisas (*abortus*, *melitensis* y *suis*) sino también en la mayoría de las bacterias Gram negativas, como: *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella* grupo N, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli*, *Escherichia hermannii*, *Pseudomonas maltophilia*, y *Francisella tularensis*, explica la existencia de las reacciones cruzadas entre *Brucella* y las bacterias antes mencionadas, que eventualmente pueden confundir el diagnóstico.

2. Haptenos nativos y Polisacárido B (HN y Poli B): Estas estructuras están compuestas básicamente por una cadena de polisacáridos semejantes a la Cadena O del LPS, pero no están unidos a otros azúcares o al lípido A.

3. Proteínas de la membrana externa: (PME) Estas proteínas se las clasifica en como del grupo 1, grupo 2, grupo 3, lipoproteínas y proteínas menores.

Varias de estas proteínas, han demostrado ser de utilidad como antígenos para ser utilizados en pruebas diagnósticas y también como inmunógenos para el futuro desarrollo de vacunas subcelulares que no interferirían con las pruebas de diagnóstico más usuales.

PATOGENESIS DE LA INFECCIÓN

1. Ingreso del agente al organismo (infección primaria)

B. melitensis ingresa al organismo animal a través de las membranas mucosas lo que le permite llegar a la submucosa, donde entra en contacto por primera vez, con el sistema inmune, generándose una reacción inflamatoria aguda donde la bacteria puede ser rechazada por el organismo o por el contrario progresar hacia la próxima etapa.

2. Localización primaria (Infección de los ganglios linfáticos locales)

Las Brucellas que logran escapar del sistema inmune en la submucosa, vía el drenaje linfático, llegan hasta los ganglios linfáticos de la región entre los 4 y 10 días post infección. Como la vía más común de entrada de *B. melitensis* es la vía oral/digestiva, los ganglios del cuello y cabeza son los que generalmente se infectan al inicio. Los ganglios linfáticos infectados se encuentran aumentados de tamaño debido a la hiperplasia linfoidea y retículo endotelial y a la infiltración de células inflamatorias.

3. Bacteriemia (Fase de dispersión)

Si el organismo falla en destruir las Brucellas en los ganglios linfáticos, se establece una infección persistente y la posibilidad de que las bacterias escapen del ganglio, pasen a la sangre (bacteriemia) y se dispersen por todo el organismo.

Las Brucellas son capaces de vivir dentro de los leucocitos y utilizar a los neutrófilos y macrófagos para protegerse de los anticuerpos humorales y de los mecanismos celulares de acción bactericida, durante su dispersión a todo el organismo vía hematógena.

4. Localización secundaria (Infección del sistema genital)

A los 15 días post inoculación, *B. melitensis* puede ser aislada de bazo y entre los 22 a 29 días, se la puede aislar de ganglios linfáticos distales, ubre y útero gestante en la hembra. En el macho se la puede aislar de ganglios linfáticos, testículos, epidídimos y glándulas sexuales accesorias. Lograda la infección del útero y la placenta, el desenlace más frecuente de esta etapa será el aborto, signo típico de la enfermedad.

CLINICA Y PATOLOGIA

Tanto en la hembra como en el macho *B. melitensis* se localiza fundamentalmente en el tracto reproductivo y ganglios linfáticos, pero también puede hacerlo en sistema nervioso central, médula ósea, ubre, huesos, corteza renal y membranas sinoviales. Estas Brucellas localizadas, generalmente producen lesiones focales de tipo granulomatosas compuestas básicamente por macrófagos, linfocitos, células plasmáticas y neutrófilos, con necrosis leves y raramente se observa fibrosis.

1. En la hembra

Los principales signos de la infección por *B. melitensis* en la cabra son el aborto en el último tercio de la gestación, retención de la placenta y el nacimiento de cabritos débiles, que generalmente mueren en el peri-parto. Esto produce una reducción en el porcentaje de señalada y un aumento de la mortalidad perinatal. Se ha reportado que el aborto en cabras preñadas se produce entre 3 y 4 semanas después de haber sido infectadas experimentalmente con altas dosis de *B. melitensis*. Las cabras infectadas que han abortado, en los partos posteriores, aunque éstos sean normales, seguirán expulsando Brucellas al medio ambiente, a través de la placenta, fluidos vaginales, leche, etc. La expulsión de Brucellas a través del fluido vaginal puede extenderse hasta 2 o 3 meses después del aborto o parto. En la placenta de una hembra infectada se pueden observar cotiledones afectados, de color grisáceo y con distinto grado de necrosis y cotiledones totalmente normales con el característico color rojizo. También se puede observar presencia de edema y engrosamiento de la membrana placentaria.

2. En el macho

La infección por *B. melitensis* puede producir en castrones (machos cabríos) orquitis que cursa con inflamación de las tunicas vaginales y escroto distendido por la presencia de un exudado hemorrágico y/o fibrinopurulento. También pueden estar afectados los epidídimos siendo común la presencia de granulomas espermáticos. Brucella también es causal de procesos inflamatorios en vesículas seminales. El efecto de la infección por Brucella en el tracto reproductivo del macho se refleja en semen de mala calidad que finalmente se traduce en una pérdida temporal o permanente de la fertilidad. También se han reportado higromas e inflamación de articulaciones.

3. En el feto

Los fetos abortados pueden estar en distinto grado de desarrollo y tener un aspecto normal. En algunos casos podrá constatarse hígado y bazo agrandados y una cantidad anormal de líquido sanguinolento en cavidades.

La enfermedad en el humano: la enfermedad cursa con fiebre continua o intermitente, pudiendo variar desde normal en la mañana hasta 40°C en la tarde. Este estado puede durar desde 2 a 3 semanas hasta varios meses.

Los síntomas más comunes son escalofríos, sudores, astenia, fatiga y adelgazamiento. El insomnio, la impotencia sexual, constipación, anorexia, cefalgias, artralgias raquialgias y dolores generalizados son también síntomas comunes.

Entre las complicaciones más frecuentes se pueden citar encefalitis, meningitis, espondilitis, artritis supurativas y endocarditis, pudiendo llevar a la postración del individuo.

La terapéutica actual consiste en el tratamiento del paciente con aplicación de un combinado de antibióticos basado en el uso de la Doxiciclina en forma oral más Estreptomicina o Rifampicina en forma inyectable por un lapso de 30 a 45 días o más, según la evolución del paciente. Las dosis usuales, son:

Doxiciclina 1 comprimido de 100 mg cada 12 horas durante 42 días. Rifampicina 1 cápsula de 300 mg cada 8 o cada 12 horas durante 42 días. Estreptomicina 1 ampolla de 1gr. Intramuscular cada 24 horas durante 14 a 21 días.

La brucelosis puede confundirse con la gripe, mononucleosis, hepatitis, fiebre tifoidea, toxoplasmosis, leptospirosis, endocarditis, osteomielitis y meningoencefalitis, por lo que ante una sospecha de brucelosis es importante realizar los diagnósticos diferenciales.

Se recomienda tanto a veterinarios como productores que puedan estar en contacto con animales infectados, productos de abortos (fetos y placentas) o manejo de la vacuna, contemplar medidas de protección adecuadas, usando guantes, barbijo, lentes, mameluco o guardapolvos descartables, etc. En caso de accidente por autoinoculación o salpicadura con cepas vacinales consultar al médico para evaluar la necesidad de un tratamiento preventivo

Esta información ha sido provista por el Dr Jorge Wallach, Médico referente en Brucelosis en Argentina, quien puede ser consultado en el Hospital Muñiz, Uspallata 2272, Capital Federal. Tel: 011 4 305-1944 int. 233 o 011 4 345-0609.

EPIDEMIOLOGIA

1. Como ingresa la Brucelosis a un establecimiento libre?

El ingreso de la Brucelosis a un establecimiento puede ocurrir de varias maneras, pero la más relevante es sin duda la introducción de animales infectados. Ello puede ocurrir:

- (a) por el ingreso de cabras madres o castrones provenientes de puestos o establecimientos infectados.
- (b) por el préstamo de reproductores a otros puestos o establecimientos infectados y reintroducción de dichos animales sin pasar por un período de cuarentena y sin la realización de los análisis serológicos correspondientes.
- (c) por el mal estado del alambrado perimetral los animales pueden salirse del establecimiento, pasar a un establecimiento vecino y allí infectarse por contacto con animales infectados o ingerir pastos o aguas infectadas.
- (d) por la inexistencia del alambrado perimetral, los animales de varios puestos o propietarios diferentes, pastorean en campos comunes. En este caso, animales sanos de un propietario pueden entrar en contacto con animales o áreas infectadas. Lo más probable, es que hembras infectadas aborten en campos de pastoreo comunes, infectando el campo y siendo ésta la fuente de contaminación para los animales sanos.
- (e) La existencia de las "castronerías" es una costumbre difundida entre productores caprinos de algunas regiones, que ante la falta de instalaciones para separar las hembras de los castrones durante la época de reposo sexual y hasta el inicio del servicio, un productor (el castronero) se hace cargo de la cría y cuidado de los castrones durante la época de descanso reproductivo a cambio de una paga o intercambio de bienes. En este periodo se pueden contagiar los castrones entre sí.

Evitar el contacto de los animales de diferentes productores o puestos. Para ello es necesario la implementación de alambrados perimetrales y en el caso de que ya existieran, mantenerlos en buenas condiciones para evitar el pasaje de animales entre puestos o establecimientos, tarea que no resulta sencilla, pues los alambrados de uso común, útiles para contener a Bovinos, Ovinos y Equinos, no son suficientes para detener a los Caprinos.

Evitar prestar o recibir prestado animales de vecinos o puestos que tengan la enfermedad

Si se ingresan animales, hacerlo a partir de establecimientos libres de la enfermedad. Si no hay establecimientos libres y se compra de un establecimiento sin certificación sanitaria, los animales comprados deberán ser mantenidos en cuarentena en corral aislado del resto de los animales y hacerle dos sangrados con una separación de entre 30 y 45 días antes de integrarlos al hato.

2. Como se disemina la infección una vez que ha ingresado al establecimiento?

Una vez que la infección ha ingresado al establecimiento (usualmente a través de animales infectados), lo primero que va a ocurrir es la contaminación del ambiente.

El ambiente se contamina a partir de las excreciones de los animales infectados, como pueden ser los fetos abortados, cabritos muertos a las pocas horas de nacer, las placentas de abortos o partos, el flujo vaginal que descarga la hembra después del parto o aborto, por la leche de la cabra infectada, por el semen del castrón infectado, por la orina, etc.

Aquí es importante remarcar un concepto de fundamental importancia para entender la dinámica de la enfermedad: dónde se reproducen o multiplican las Brucellas?. La cabra preñada, que se infecta y aborta es la "fábrica" de Brucellas, y en el momento del aborto, va a liberar al medio ambiente millones de bacterias, como ya se dijo, a través del feto, envolturas fetales y flujo vaginal. De esta manera se contaminan los pastos, aguas y suelos con Brucellas, posibilitando así que animales sanos se infecten al comer los pastos o beber agua, que están en derredor o en contacto de placentas, fetos abortados, cabritos muertos, etc.

Cuando se descubran en el campo fetos abortados, chivitos recién nacidos muertos, placentas, etc. lo aconsejable es recolectarlos usando guantes protectores o ante la falta de guantes usar una bolsa de nylon como guante para evitar que la persona se contamine y enviarlos para diagnóstico (al veterinario o al laboratorio). De no ser posible el envío a laboratorio, quemarlos o enterrarlos bien profundo (para que no lo desentierren los perros u otros animales carroñeros). En el caso de que esto ocurra en los corrales, además de recolectar los fetos y placentas, lo ideal es limpiar los corrales retirando el guano, previamente humedecido para evitar el polvillo, que es una fuente de contaminación para el ser humano y posteriormente desinfectar el corral mojándolo con una regadera con algún desinfectante a base de cloro o fenoles.

3. Cómo se infecta un animal sano?

Como se dijo antes, posterior a un aborto, las Brucellas pueden estar en el suelo, pasturas y agua.

Un animal sano se va a infectar entonces a partir de comer pasto contaminado, beber agua contaminada y eventualmente al entrar en contacto físico con un feto abortado o una placenta, etc.

Si bien en la mayoría de los casos la infección se produce por la vía digestiva, la infección también puede ocurrir a través de la vía aérea con ingreso del agente por las mucosas ocular y nasal. En este caso las Brucellas son vehiculizadas en el polvo (contaminado previamente) que se levanta en los corrales al mover los animales. Más difícil de que ocurra, son el contagio a través de las mucosas anal, prepucial, mamaria y uterina.

La brucelosis puede transmitirse a través de la inseminación artificial y también vía congénita, de la madre a los hijos y estos animales quedar persistentemente infectados.

4. Cuáles son los factores que definen que un animal se enferme o no?

La infección por *B. melitensis* en el caprino está influenciada por:

(a) Factores inherentes al individuo

1. Edad: La edad del animal puede ser un factor protector o un factor de riesgo. Los animales jóvenes son poco susceptibles a la infección por *B. melitensis*, pero a medida que avanza la edad la susceptibilidad aumenta. A modo de ejemplo, las cabras adultas son más propensas a desarrollar la enfermedad que cualquier caprino joven.

2. Estado fisiológico: La preñez aumenta la susceptibilidad del animal a desarrollar la enfermedad y cuanto más avanzada está la preñez más chance tiene la hembra de infectarse, desarrollar la enfermedad y abortar.

3. Sexo: Aunque no hay estudios concluyentes pareciera ser que los machos son más resistentes a la enfermedad que las hembras.

4. Lactancia: Los cabritos y cabritas nacidas de madres infectadas pueden adquirir la infección durante la gestación o en los primeros días de vida por ingestión de leche contaminada. Estos animales son prácticamente imposibles de detectar posteriormente mediante las técnicas diagnósticas usuales ya que no desarrollan respuesta inmune humoral. Al momento de la primera gestación pueden desarrollar la enfermedad y abortar y entonces a partir de allí si desarrollarán una respuesta inmune detectable por las técnicas serológicas de rutina.

5. Resistencia del hospedador: Se cree que hay diferencias en cuanto a susceptibilidad a la infección a partir de diferencias genéticas entre los individuos. También existirían diferencias entre animales vacunados, en razón de que algunos individuos lograrán generar una inmunidad sólida contra la enfermedad y otros no.

6. Período de incubación: Es muy variable y en la hembra es inversamente proporcional al estado de desarrollo del feto en el momento de la exposición.

7. Enfermedades supresivas o debilitantes del sistema inmune pueden facilitar la infección por Brucella.

8. Stress e hiponutrición: Ambas condiciones conllevan a un debilitamiento del sistema inmune y por lo tanto a un incremento de las chances de contraer enfermedades, entre ellas la brucelosis.

(b) Factores inherentes al agente infeccioso

1. Dosis infectiva: Para que un animal se infecte es necesaria una cantidad mínima de bacterias que pueda vencer las defensas primarias del animal y difundirse al organismo. A mayor cantidad de bacterias que desafían al animal, mayor será la chance de enfermar.

2. Patogenicidad y virulencia: Hay distintas biovariedades y distintas cepas que varían en su patogenicidad y en su virulencia. Dependiendo de estas características, habrá más chances o no de infección, de expresión de síntomas y producción de lesiones, más corto o largo será el período de incubación y mayor o menor será la cantidad de Brucellas expulsadas al medio ambiente.

(c) Factores relacionados con el manejo y el medio ambiente

1. A mayor tamaño del hato, mayor densidad de animales y mayor movimiento o intercambio de reproductores, se incrementan las chances de contagio y aumenta la dificultad para el control.

2. Supervivencia del agente: Brucella puede sobrevivir en el ambiente desde pocas horas a varios meses, dependiendo de las condiciones de asoleamiento, humedad, pH, temperatura, grado de cobertura del suelo, laboreos a que es sometido el campo, vientos, tipo de pastoreo, etc. A modo ilustrativo en la siguiente tabla se presentan algunos valores de supervivencia de Brucella.

Tabla 1: Tiempos estimados de supervivencia de *Brucella* en el medio ambiente, bajo distintas situaciones de temperatura, humedad y exposición al sol, según diversos autores.

Medio en el que se encuentra <i>Brucella</i>	Condición	Tiempo de supervivencia
Suelo	Seco	4 días
Suelo	Otoño- 90% de humedad	48-73 días
Suelo	Húmedo y con frío	180 días
Agua	37°C - pH 7.5	< 1 día
Agua	8°C - pH 6.5	>57 días
Agua		30 -150 días
Materia fecal	Verano	1 día
Materia fecal	Húmeda y con frío	Hasta 240 días
Desperdicios animales	Depósito a 12°C	Hasta 8 meses
Feto	A la sombra	180 días
Lana-pelo	En almacenamiento	110 días

DIAGNOSTICO DE LA BRUCELOSIS CAPRINA

El diagnóstico de la Brucelosis se puede realizar básicamente a tres niveles:

1. Clínico
2. Detección de *Brucella* en muestras biológicas
3. Detección de anticuerpos específicos.

1. Diagnóstico Clínico

En la hembra, el aborto en el último tercio de la gestación nos debe hacer sospechar siempre de Brucelosis, si bien no es ésta la única enfermedad que produce abortos y en esta etapa de la gestación.

En machos la presencia de orquitis es el principal signo compatible con la Brucelosis. Semen de mala calidad también es característico de la enfermedad.

En el momento del aborto, la revisión cuidadosa de la placenta puede arrojar alguna información ya que *Brucella* produce lesiones de necrosis a nivel de cotiledones como ya se describió previamente.

2. Detección de la *Brucella* en muestras biológicas

2.1. Bacterioscopía

La tinción de frotis o improntas a partir de órganos y fluidos infectados es una forma rápida, sencilla y barata de realizar un diagnóstico presuntivo de Brucelosis.

Las muestras de preferencia son hisopados de flujo vaginal de la cabra abortada e improntas de cotiledones afectados. En fetos abortados, tomar improntas de contenido de cuajo, hígado, bazo y pulmón.

Las improntas y frotis obtenidos se pueden teñir con las coloraciones de Gram y Stamp. La presencia de cocobacilos pequeños, Gram negativos son característicos de *Brucella*. Si se cuenta con el conjugado específico, se puede aplicar también la técnica de inmunofluorescencia sobre dichas improntas.

2.2. Aislamiento por cultivo

Una de las formas de confirmar un diagnóstico presuntivo de Brucelosis es a través del aislamiento de la *brucella*. Para el aislamiento de *Brucella* a partir de una cabra o feto abortado, las muestras de preferencia son:

Muestras de la hembra abortada

- a) Hisopados vaginales de la cabra parida o abortada, tomados lo más cercano al parto o aborto.
- b) Muestras de leche en recipiente estéril.
- c) Si la cabra llegase a morir y se practica la necropsia, puede intentarse el aislamiento de *Brucella* a partir de ganglios linfáticos retromamarios e ilíacos, útero, ubre, bazo, hígado, etc.

Muestras del feto y envolturas

- a) Trozo de placenta, especialmente cotiledones afectados en recipiente estéril.
- b) Contenido del cuajo en jeringa estéril y líquido torácico si lo hubiera, del feto abortado.
- c) Trozo de hígado, bazo y pulmón del feto abortado en recipiente estéril.

Las muestras deben remitirse refrigeradas lo antes posible al laboratorio. *B. melitensis* soporta el congelamiento, por lo que si no se puede hacer un envío urgente al laboratorio, las muestras se pueden congelar a -20°C. hasta su envío o procesamiento.

En el laboratorio, para el aislamiento de *Brucella melitensis* se pueden usar medios comunes como el agar base, el agar tripticasa-soya o el agar brucella, adicionados de un 5-7% de sangre o suero. Para el caso de muestras muy contaminadas, como suelen ser los hisopados vaginales o muestras de placenta, lo ideal es usar medios selectivos para *Brucella*. En este caso lo recomendable es utilizar el Medio de Farrel y si se dispone, también el Medio de Thayer Martin modificado, ambos en paralelo.

2.3. Detección de *Brucella* por inmunohistoquímica

Esta técnica se puede utilizar tanto con improntas como en cortes histológicos de órganos infectados. Las muestras fijadas en formol (para el caso de tejidos conservados) se procesan como de rutina y en vez de teñirlas con la coloración de hematoxilina y eosina, se las trata con un suero anti-brucella y luego se aplica un anticuerpo conjugado y un compuesto de revelado, por lo que de haber *Brucellas* en el tejido o impronta examinados se verán puntos de color amarillo/marrón o rojo, según los reactivos usados. Esta técnica nos permite determinar si efectivamente hay *Brucellas* en el tejido o impronta y además determinar su ubicación y distribución dentro del tejido contenido en el corte histológico.

2.4. Detección del DNA del agente

Existe una técnica denominada Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) que sirve para identificar el DNA de *Brucella* en muestra biológicas. Es una prueba de buena sensibilidad que detecta cantidades mínimas de DNA bacteriano en las muestras diagnósticas y que además tiene como ventaja que el resultado definitivo se alcanza en no más de 2 días, en comparación con los métodos tradicionales de cultivo e identificación que demandan no menos de 15 días para obtener un diagnóstico final. Asimismo es una técnica de mucha utilidad para diferenciar las especies de *Brucellas* entre sí y para diferenciar las cepas virulentas de campo de las cepas vacunales, como serían la *Brucella melitensis* y la cepa REV I vacunal.

3. Detección de anticuerpos específicos

En razón de que el cultivo bacteriológico es prácticamente imposible de usar en gran escala, como por ejemplo para determinar el porcentaje de animales infectados que tenemos en un hato, una región, provincia o país, se recurre a

un método indirecto de diagnóstico como es la detección de anticuerpos anti-brucella en el suero sanguíneo o leche de los animales.

La prueba inmunológica ideal sería aquella que detectara las infecciones nuevas, las crónicas y las latentes, que diferenciara animales vacunados de los infectados naturalmente, que fuera 100% sensible (detecte como positivos a todos los animales infectados) y 100% específica (detecte como negativos a todos los animales no infectados o sanos), etc. En razón de que hasta el presente dicha prueba no existe, se trabaja con una combinación de ellas, dependiendo del objetivo del trabajo.

Según los países y la situación epidemiológica de la enfermedad en esos países, se definen las pruebas a utilizar y las condiciones en que deben ser usadas para obtener el resultado deseado. En la siguiente tabla se presentan las principales pruebas disponibles para el diagnóstico de la brucelosis caprina en el mundo.

Tabla N° 2: Principales técnicas serológicas e inmunológicas disponibles para el diagnóstico de la Brucelosis caprina.

Prueba diagnóstica	Tipo respuesta que detecta
Rosa de Bengala modificado	R. I. Humoral
BPA	R. I. Humoral
RAP	R. I. Humoral
ELISA indirecto (suero o leche)	R. I. Humoral
Anillo en leche (PAL)	R. I. Humoral
Aglutinación lenta en tubo	R. I. Humoral
Aglutinación en tubo con 2-Mercapto-etanol	R. I. Humoral
Aglutinación con Rivanol	R. I. Humoral
Fijación del complemento	R. I. Humoral
ELISA de competición	R. I. Humoral
Doble inmunodifusión en gel de agarosa	R. I. Humoral
Inmunodifusión radial en gel de agarosa	R. I. Humoral
Fluorescencia polarizada	R. I. Humoral
Intradermoreacción o Skin test	R. I. Celular
Interferón gamma	R. I. Celular

Las pruebas que más se han utilizadas son la del BPA y el Rosa de Bengala modificado, por su sencillez, rapidez de ejecución y bajo costo.

En el caso del BPA se utiliza la técnica original mezclando 80µl de suero con 30µl de antígeno, agitando la mezcla al principio, luego a los 5 minutos y con lectura final a los 8 minutos de mezclados los sueros.

En el caso del Rosa de Bengala, la técnica original desarrollada para el bovino (30µl de suero + 30µl de antígeno) debe modificarse para su uso en caprinos. En nuestra experiencia los mejores resultados se obtienen mezclando 80µl de suero con 30µl de antígeno y realizando la lectura a los 4 minutos. En Europa utilizan 75µl de suero con 25µl de antígeno y realizando la lectura a los 4 minutos (Díaz-Aparicio 1994).

Las pruebas llamadas confirmatorias como la aglutinación en tubo con 2-mercapto etanol, Fijación el complemento, Elisa de competición, etc., desarrolladas originalmente para su uso en bovinos, también deben ajustarse para su uso en caprinos y sus valores de corte modificarse, según sea un área con o sin vacunación con vacuna REV I.

Respecto a los tests de Elisa, los hay del tipo indirecto y de competición, siendo estos últimos de ayuda para la diferenciación de anticuerpos vacunales generados por la vacuna REV I de los anticuerpos generados por la infección de campo. La ventaja de los test de Elisa sobre las pruebas de aglutinación en placa o tubo, reside, entre otros, en la lectura objetiva de los resultados (mediante un espectrofotómetro), la posibilidad de incluir en la prueba una serie de controles de calidad diariamente y la posibilidad de procesar una mayor cantidad de muestras por día.

En países como Francia ha sido muy utilizada una prueba de intradermoreacción o skin test usando como antígeno la Brucellina, que no está disponible en nuestro país.

Si bien el diagnóstico inmunológico es la forma más común y difundida para el diagnóstico de la Brucelosis, hay que tener presente que al ser ésta una forma indirecta de diagnóstico, siempre los resultados deben ser tomados con precaución y recordar que la serología es excelente como técnica de diagnóstico a nivel poblacional, pero a nivel de individuo sus resultados no debieran tomarse como definitivos.

CONTROL DE LA BRUCELOSIS EN CAPRINOS

Para el control de la brucelosis en caprinos se cuenta con varias herramientas, las cuáles pueden ser usadas en cada región, provincia o país, en diferentes combinaciones o estrategias, de acuerdo a una serie de factores como son la prevalencia de la enfermedad en la población objetivo, infraestructura disponible en los campos, los sistemas de producción imperantes, cantidad y calidad de los servicios veterinarios disponibles, presupuesto disponible para la campaña de control, legislación existente, etc.

El control de la Brucelosis caprina debe basarse en 4 pilares fundamentales, utilizados en forma conjunta, alternada o en cadena a lo largo del tiempo:

1. **incrementar rápidamente la inmunidad de la población, lo cual se logra con el uso de vacunas.**
2. **establecer un sistema de detección de los animales infectados con aparte y/o descarte de los mismos.**
3. **implementar medidas de manejo y de higiene a fin de disminuir la cantidad de bacterias en el medio ambiente y evitar que los animales tomen contacto con las mismas.**
4. **mantener en forma estable la producción y economía del establecimiento.**

1. Incrementar la inmunidad de la población - Vacunas

El modo de incrementar la inmunidad a nivel poblacional se logra mediante el uso de vacunas. En el caso de la Brucelosis caprina se han utilizado diferentes vacunas en diferentes partes del mundo, a saber:

Vacuna *Brucella melitensis* Cepa 53-H-38: Es una vacuna inactivada desarrollada en el Instituto Pasteur de Túnez entre 1957 y 1962. Fue muy utilizada en Francia y en todos los países francófonos para el control de la brucelosis caprina, pero ha caído en desuso principalmente por la persistencia de los anticuerpos vacunales y las reacciones inflamatorias en el lugar de inoculación.

Vacuna *Brucella melitensis* REV I: Es una vacuna a germen vivo atenuado desarrollada por Elberg y colaboradores entre 1953 y 1955 en California para su uso en ovinos y caprinos. Es estable y tiene escasa virulencia pero es patógena para el ser humano, produce abortos si es aplicada en cabras gestantes, se excreta en leche en animales vacunados e interfiere con la serología utilizada para el diagnóstico de la enfermedad. Tiene prácticamente las mismas ventajas y desventajas que la Cepa 19 que se usa en bovinos, pero

en estudios comparativos, demostró mayor poder inmunógeno que Cepa 19. En áreas donde conviven bovinos con ovinos y/o caprinos y es común la infección por *Brucella abortus* y *melitensis*, se puede utilizar REV 1 en las 3 especies animales (Crespo León, 1994).

Brucella melitensis, Cepa M111: Desarrollada en China en la década de los 80. Se puede aplicar en forma inyectable u oral y su eficacia protectora es del 84% en ovinos y del 78% en caprinos. Esta vacuna ha sido muy utilizada en el norte de China permitiendo reducir una tasa de abortos del 50% a valores mínimos en el término de 2 años (WHO/FAO/OIE, 1997).

Brucella suis Cepa 2: Desarrollada también en China. Ha sido usada en China desde el año 1964 hasta la actualidad en un plan de 4 fases, abarcando todas las especies domésticas (bovinos, ovinos, caprinos y cerdos) y en Yaks. Su uso ha permitido el control de la brucelosis bovina en Mongolia y de la brucelosis caprina y ovina en la provincia de Shan Dong, donde de una prevalencia del 35% en 1960, se pasó al 0.09% en 1990 (WHO/FAO/OIE, 1997).

De todas las vacunas utilizadas, hay consenso en el mundo occidental de que la REV I, es la vacuna de elección para ser utilizada en un programa de control de la brucelosis caprina.

Características de la vacuna *Brucella melitensis* REV I

La Cepa REV I, es una cepa mutante, estreptomycin dependiente, proveniente de la cepa virulenta *Brucella melitensis* 6056. La cepa posee características bacteriológicas particulares que permiten diferenciarla de las cepas patógenas de *B. melitensis*. La vacuna REV I es una cepa viva atenuada por lo que al ser inoculada, se multiplica en el animal produciendo una infección controlada. En la REV I persiste la patogenicidad y virulencia residual de la cepa de origen, por lo que tras su inoculación se produce una inflamación granulomatosa generalizada que luego involuciona y fiebre que puede persistir hasta el décimo día post inoculación. La cepa si bien es estable tiene una tendencia a la disociación al ser cultivada in vitro, lo cual es una característica que debe ser permanentemente controlada en los laboratorios productores de vacunas.

Usos de la vacuna *Brucella melitensis* REV I

Originalmente la vacuna fue diseñada para ser aplicada una vez en la vida en forma subcutánea en animales jóvenes de entre 3 y 6 meses de edad. De esta manera la estrategia de control consistía en vacunar la reposición y así al cabo de un período de entre 7 a 10 años se lograba tener todo el stock caprino inmune. Al aplicar la vacuna a animales jóvenes, esta producía una buena respuesta inmune y al cabo de un tiempo los anticuerpos vacunales

disminuían y ya no interferían con el diagnóstico, haciendo posible la posterior utilización de la serología diagnóstica y el descarte de los animales que se infectaban.

Sin embargo, las dificultades para lograr vacunar toda la reposición en los sistemas caprinos del mundo, trajo como consecuencia una baja cobertura vacunal que no lograba controlar la infección. A esto se suman los estudios de Verger, J.M. (1995) que demuestran que la inmunidad producida por REV I va decayendo año tras año, como puede verse en la siguiente tabla:

Tabla N° 3: Efectividad de la vacuna REV I en rumiantes menores.

	1 ^{ra} preñez	2 ^{da} preñez
N° de hembras	15	13
N° de abortos	1 (7%)	3 (23%)
N° de excretores	3 (20%)	4 (31%)
N° de infectadas a la faena	2 (13%)	3 (23%)
N° de animales protegidos	12 (80%)	8 (62%)

Ref: Tabla extraída de Verger, J.M. (1995)

A partir de esta realidad es que se buscan nuevas formas de hacer más efectivo el uso de esta vacuna y lograr coberturas adecuadas.

En Francia, Fensterbank y col. (1983) evaluaron la vía conjuntival para la aplicación de la vacuna, demostrando que la Rev I aplicada por esta vía, producía una inmunidad similar a la lograda con la misma vacuna por la vía subcutánea, con la ventaja de que la vacuna colonizaba sólo los ganglios linfáticos craneales y en consecuencia la interferencia con la serología diagnóstica no iba más allá de los 6 meses. Lo más importante fue que demostraron que al usar la vacuna en forma conjuntival en cabras adultas, se repetía el fenómeno de baja interferencia con el diagnóstico, que la cepa no se excretaba en leche y que si se vacunaba una cabra preñada, las posibilidades de aborto eran bajas, en claro contraste con lo que ocurre con la aplicación subcutánea de la vacuna, que usualmente termina en aborto.

Estos hallazgos, permitieron la implementación de nuevas estrategias de uso de la Rev I, siendo la mas recomendada en la actualidad la vacunación masiva del stock caprino con dosis completa vía conjuntival, con lo que se logra la

protección inmediata de todo el stock caprino, siguiendo luego con la vacunación de la reposición y descarte de animales infectados para los sistemas de cría organizados y con buena infraestructura, o con repetición de la vacunación masiva de todo el stock caprino año por medio para los sistemas de cría extensivos, menos organizados y con escasa infraestructura.

A continuación y a modo de síntesis se presenta una tabla comparativa, respecto a ventajas y desventajas del uso de la REV I en forma subcutánea o en forma conjuntival

Tabla N ° 4: Comparación de la vacuna REV I aplicada vía Subcutánea vs. Conjuntival.

	Rev I - Subcutánea	Rev I - Conjuntival
Bacterias x Dosis	1 x 10 ⁹ UFC	1 x 10 ⁹ UFC
Dosis	1 ml	30 - 50 µl
Aplicación	Inyectable subcutánea	Gota en el ojo
Inmunidad	+++	+++
Interferencia con el diagnóstico al vacunar adultos	+++++	+
Excreción en leche	++	-
Producción de abortos al vacunar hembras preñadas	++++	+
Peligro de inoculación del vacunador	+++	+

2. Implementar un sistema de detección de los animales infectados con descarte de los mismos

Como se mencionara anteriormente, los sistemas de detección de infectados se basan en su gran mayoría en la detección de anticuerpos anti-brucella en suero sanguíneo y en leche. A ello se puede agregar la detección de abortos y estudio de los mismos.

Lo usual es realizar un muestreo de sangre una vez por año a todos los animales adultos del hato (hembras y machos), con descarte de los animales positivos. En el caso de tambos, se puede utilizar el diagnóstico en leche, ya sea individual o en pools de leche de varios animales cada 6 meses.

Lo ideal sería el descarte de todos los positivos con destino a faena, pero si no se tuviera la capacidad de reponerlos con cabras o cabrillas sanas y vacunadas, se puede pensar en el armado de un hato sanitario con todos los animales infectados, que se debe mantener aislado del resto de los animales del establecimiento y sin que se comparta ninguna instalación. Esta segunda alternativa permite (a) terminar la cría de los chivitos, hijos de madres positivas, hasta el momento del destete, (b) engordar la cabra infectada para su envío a faena o (c) darle servicio y sacarle una cría más, pero esto último con el riesgo de que la cría nazca infectada y por lo tanto el destino final de madre y cría debiera ser la faena.

Dependiendo de la urgencia con que el productor quiera controlar la enfermedad, en vez de un solo muestreo al año se pueden hacer dos, tres o los necesarios hasta que no aparezcan más animales positivos. Sin embargo, esto no siempre puede ser lo más indicado, pues si no se acompaña, como se dijo antes, de una vacunación eficiente, los resultados pueden ser desalentadores y no viables económicamente para el propietario.

Finalmente recordar que todo animal que ingrese al establecimiento, a préstamo o por compra, debe ser también controlado con dos pruebas serológicas, realizadas con un intervalo de 30 - 45 días. Recién después de comprobar que ha resultado negativo a ambos muestreos se lo podrá ingresar y juntar con la hacienda local.

Es importante dejar establecido, que el descarte de los animales infectados, no evita que en ambientes contaminados, los animales sanos se sigan infectando, por ello debe implementarse siempre en conjunto con un programa de vacunación.

3. Implementar medidas de manejo y de higiene a fin de disminuir la cantidad de bacterias en el medio ambiente

Hay una serie de medidas de manejo, que ayudan en mayor o menor grado a bajar y/o impedir la contaminación del campo y de la pastura y por ende a prevenir la contaminación del ganado sano. Entre ellas podemos citar:

- * Higiene y desinfección en corrales de encierre diurno y/o nocturno.
- * Higiene y desinfección en establos y salas de ordeño en el caso de tambos organizados.

- * Detección de cabras abortadas y separación de las mismas a un potrero sanitario a fin de evitar que sigan contaminando el ambiente general.
- * Recolección de fetos abortados y placentas, del campo o corrales y destrucción o entierro sanitario de los mismos.
- * Rotación anual de los potreros o corrales de parición, dejándolos descansar sin animales por al menos 6 meses.
- * No comprar animales sin un chequeo previo que demuestre que son negativos.

4. Mantener estable la producción y economía del establecimiento

Este es un concepto productivo-económico referido a que cuando se inicia un plan de control de Brucelosis, se va a necesitar **"la mayor cantidad posible de cabras para que produzcan la mayor cantidad posible de cabrillas"**, para poder reponer las hembras infectadas que se descarten. Entonces se debe adoptar la siguiente regla: **"nunca descartar más animales positivos de los que se puedan reponer"**. Esto se debe a que cuando se establece un plan de control de Brucelosis, nunca se debe disminuir la cantidad de vientres, pues justamente lo que necesitaremos son cabrillas para reposición y cabritos para la venta ya que no hay que disminuir los ingresos del productor.

De hacer lo contrario, se genera un círculo vicioso, pues al descartar más animales de los que se pueden reponer, se achica el hato, en consecuencia se producirán menos cabrillas para reponer y también menos cabritos machos para la venta, ciclo que de repetirse, llevará al propietario a abandonar el plan de control.

ANEXO 1: Guía para la extracción de muestras de sangre y obtención del suero

A continuación se presentan algunas recomendaciones y precauciones que deben tomarse, a fin de que las muestras sean debidamente extraídas, identificadas, conservadas y enviadas para su análisis.

Preparación del material

Los tubos de vidrio que se vayan a usar deben estar perfectamente limpios. Lo ideal es recolectar la sangre en tubos que luego puedan ser centrifugados, si es que el suero no se separó en forma espontánea. Para el lavado de los tubos ya usados, recomendamos dejar el material en remojo y desinfección por un día en lavandina, luego lavar con cepillo con agua y detergente, enjuagar varias veces hasta que no queden restos de detergente (espuma). Dejar escurrir los tubos boca abajo en una gradilla a temperatura ambiente hasta que estén totalmente secos. Colocar tapón de goma y rotular con etiqueta autoadhesiva o cinta de enmascarar. Para escribir los tubos de sangrar o tubitos de suero, recomendamos hacerlo con marcador indeleble color negro y de trazo grueso.

Técnica de sangrado

Con el animal de pie y utilizando un rincón del corral, se lo encaja de nalgas en el mismo, se lo toma por la cabeza y se la levanta levemente hacia arriba y a la derecha. El operario se coloca en cuclillas delante del animal y munido de un tubo de sangrar y una aguja hipodérmica descartable, sangra al animal (Figura 2).

Para introducir la aguja en la vena es necesario comprimir con la mano izquierda la vena yugular a nivel de la entrada del pecho y esperar que la misma se ingurgite. Luego, con los dedos mayor y anular de la mano derecha se palpa la zona hasta que se detecta la vena tensa y en ese momento y sin disminuir la presión que estamos ejerciendo sobre la vena, procedemos a clavar la aguja, con el bisel hacia arriba. Una vez que atravesamos la vena, y surja el chorrito de sangre colocamos el tubo para juntar la sangre. El tubo debe mantenerse inclinado para que la sangre deslice por un costado del mismo a fin de que el suero no se hemolice por la ruptura de glóbulos rojos al golpear contra el fondo del tubo. Además con esta maniobra se evita la formación de espuma que posteriormente va a retardar la separación del coágulo y del suero.

Antes de tomar la muestra de sangre el tubo tiene que estar tibio. Para ello, es necesario mantener los tubos en una gradilla dentro de una caja de telgopor en donde previamente hemos colocado una bolsa de agua caliente en el fondo. Llenar el tubo de sangre en sus 2 (dos) tercios y evitando movimientos bruscos, colocar el tubo en la gradilla ubicada dentro de la caja de telgopor, para evitar el enfriado brusco de la sangre extraída (Figura 2).

Figura N° 2: Sangrado a campo de caprinos, con tubo y aguja de la vena yugular.



Técnica para el sangrado de caprinos

El sangrado se hace con el animal en pie y con la cabeza levemente levantada y girada hacia un costado.

Abajo puede observarse el equipo utilizado para el muestreo de sangre a campo, compuesto por un cajón de madera con todos los utensillos (que sirve también de mesa de apoyo), caja de telgopor con bolsa de agua caliente y tubos en su interior y balde con agua con desinfectante para la higiene de las manos y materiales durante el trabajo.



Obtención, acondicionamiento y conservación del suero

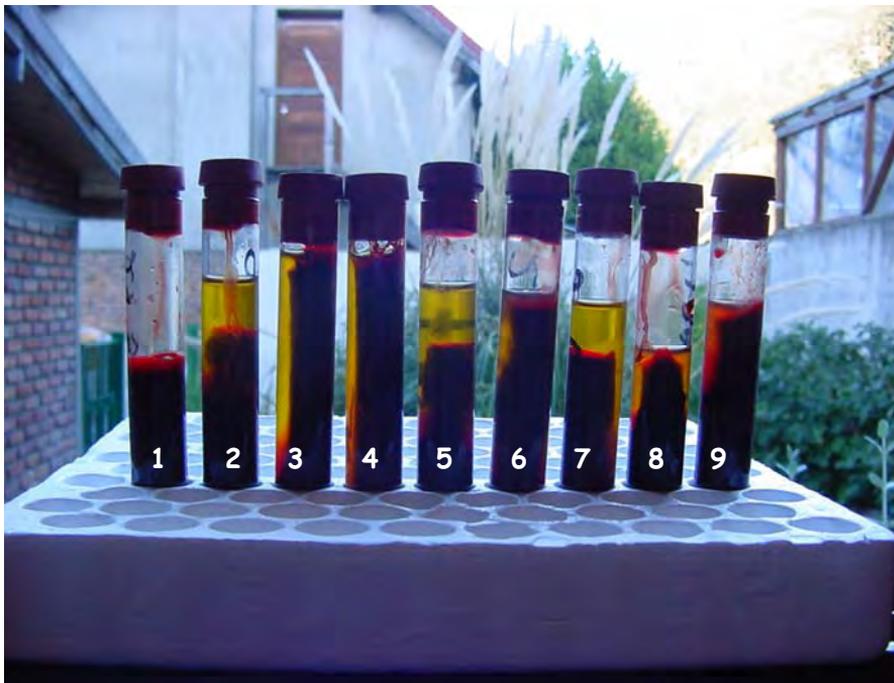
Trás unas horas de reposo a temperatura no inferior a los 20°C y una vez que el coágulo se ha retraído, liberando el suero, separar el suero en un tubito plástico, tipo eppendorf lo antes posible (máximo 24 horas de extraída la sangre) y congelarlo a -20°C hasta su envío al laboratorio. De lo contrario el suero entra rápidamente en descomposición y los resultados no son confiables. Si algún tubo no dio suero o el mismo está turbio o sanguinolento,

se puede obtener suero o clarificar el mismo, centrifugando el tubo a 1500/2000 rpm por 15 minutos.

Enviar los sueros congelados en conservadora de telgopor con abundantes refrigerantes. Adjuntar planilla de campo con los datos del campo y de los animales.

En la Figura 3, se muestra una colección de sueros, donde pueden verse tubos con muestras de sangre de diferente calidad a raíz de no haberse respetado algunas de las recomendaciones a que se hacen referencia en esta guía.

Figura N° 3: Obtención de suero a partir de muestras de sangre.



Ref.: Descripción de los defectos y sus posibles causas

a) Tubo 1: tiene poca muestra y no liberó suero. Posibles causas: tubo mal lavado, tubo frío al momento de la extracción de la muestra de sangre, baja temperatura después de extraída la muestra.

b) Tubos 2, 5 y 7: Normales con buena retracción del coágulo de sangre y liberación de suero sin hemólisis.

c) Tubos 3 y 4: Muy llenos, con retracción parcial del coágulo y liberación parcial de suero. Posibles causas: tubos mal lavados y muy llenos.

d) Tubos 6 y 8: Coágulo parcialmente retraído. Poca cantidad de muestra (tubo 8) Posible causa: tubo mal lavado y/o tubo frío al momento de la extracción.

e) Tubo 9: Coágulo parcialmente retraído y suero hemolizado. Posibles causas: tubo mal lavado, tubo frío al momento de la extracción, aguja o tubo mojado, frío post extracción de la muestra.

BIBLIOGRAFIA PARA CONSULTA

- Acha, P.N.; Szyfres, B. (1986) Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 2da Edición. Organización Panamericana de la Salud, Washington, USA. 989 pág.
- Aguirre, D.H.; Cafrune, M.M.; Rebuffi, G.E.; Manzini, V.R. (1999) Brucelosis caprina en el departamento de Santa Victoria, provincia de Salta. Terrizo. Vol 28 (147): 114-115.
- Alton, G.G. (1990) *Brucella melitensis*. Capítulo 17:383-409. En: Animal Brucellosis, Ed. por Nielsen y Duncan. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.
- Angus, R.D.; Barton, C.E. (1984) The production and evaluation of buffered plate antigen for use in a presumptive test for brucellosis. Develop. Biol. Stand. 56: 349-356.
- Blasco, J.M. (1997) A review of the use of *B. melitensis* REV I vaccine in adult sheep and goats. Preventive Veterinary Medicine 31, :275-283.
- Camberos, H.; Colina, B. (1977) Brucelosis caprina en la provincia de Salta. Gaceta Veterinaria, Vol. XXXIX :529-532.
- Cedro, V.; Cisale, H.; Maubecin, R.; De Benedetti, L. (1962) Algunos aspectos de la brucelosis caprina. Revista de Investigaciones Ganaderas N° 14:134-142.
- Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Brucelosis. (1986) Sexto Informe. Ed. Organización Mundial de la Salud, Ginebra, Suiza. pp. 149.
- Condrón, R.J.; Spath, E.J.; de Rios, L.G.; González, R.N.; Habich, G.E.; Bisceglia, L.; Córdoba, S.; Rivero, M.; Jiménez, J.C.; Khune, G.I.; Guglielmone, A.A.; Herrera, C.; Benitez, E.N.; Salem, E.A., Fortuna, N. (1980) Brucelosis caprina y humana en el departamento de Rivadavia, provincia de Salta, Argentina. Bol. Of. Sanit. Panam. Vol 88 (5): 432-439.
- Crespo León, F. (1994) Brucelosis ovina y caprina. Ed. Office International des Epizooties - OIE. Paris, Francia. 451 pág.
- De Gea, G.; Busso, J.J.; Galvan, M. (1998) Brucelosis caprina en la zona serrana del sur de la provincia de Córdoba. Vet. Arg. Vol XV (141):35-37.
- Díaz-Aparico, E.; Marin, C.; Alonso-Urmeneta, B.; Aragon, V.; Perez-Ortiz, S.; Pardo, M.; Blasco, J.M.; Diaz, R.; Moriyon, I. (1994) Evaluation of serological tests for diagnosis of *Brucella melitensis* infection in goats. Jour. Clin. Microbiol. Vol 32 (5) : 1159-1165.
- Elberg, S. (1996) Rev I *Brucella melitensis* vaccine. Part III - 1981-1995. Veterinary Bulletin, 66 (12) :1193-1200.
- Enright, F.M. (1990) The pathogenesis and pathobiology of *Brucella* infection in domestic animals :301-320. En: Animal Brucellosis, Ed. por Nielsen y Duncan, CRC Press, Boca Ratón, Florida, USA.
- European Union. (2001) Brucellosis in sheep and goats- Scientific Committee on Animal Health and Animal Welfare - SANCO.C.2/AH/R23/2001. 89 pág.-FAO. (2003) Guidelines for coordinated Human and Animal Brucellosis Surveillance. Robinson, A. Ed. Animal Production and Health Paper N° 156. FAO, Roma, Italia. 49 pág.
- Fensterbank, R.; Pardon, P.; Marly, J. (1983) Comparison between subcutaneous and conjunctival route of vaccination with Rev I strain against *Brucella melitensis* infection in ewes. Ann Rech Vet, Vol 13:295-301.

- García Carrillo, C. (1987) La Brucelosis de los animales en América y su relación con la infección humana. Office International des Epizooties, Paris, Francia. pp. 303.
- Gaido, A.B.; Nieva, J.D., Salatin, A.O. y Aguirre, D.H. (2008) Evaluación serológica de la brucelosis caprina en los Departamentos Tilcara y Humahuaca, Provincia de Jujuy. Mem. XVII Reunión Científica Asoc. Arg. Vet. Lab. Diag., Santa Fe, Octubre 2008.
- González Tome, J.; Saraví, M.; Samartino, L. (1995) Tormenta de abortos en un establecimiento caprino causada por *Brucella melitensis*. Veterinaria Argentina, Vol. XII (112) :89-94.
- Molina, S.; Fernández, M.; Martín, G.; Cruz, L. (1997) Diagnóstico clínico de las patologías mas frecuentes en majadas caprinas del Depto. de Río Hondo, Santiago del Estero, Argentina. Therios, Vol. 26:259-267.
- Nielsen, K.; Duncan, J. (1990) Animal Brucellosis. Ed. CRC Press, Boca Ratón, USA. pp. 453.
- Radostitis, O.M.; Blood, D.C.; Gay, C.C. (1994) Veterinary Medicine. Ed: ELBS, Bailliere Tindall, London, UK. 1763 pág.
- Robles, C.A.; Uzal, F.A.; Olaechea, F.V. (1996) Guía práctica de muestreo de enfermedades en ovinos y caprinos. Ed. Robles, Uzal y Olaechea, INTA-Bariloche. Argentina. ISBN N° 950-9853-65-8.
- Robles, C.A.; Lanari, M.R.; Pérez Centeno, M.; Domingo, E. (1999) Relevamiento de Brucelosis y Artritis-Encefalitis en caprinos criollos de la provincia de Neuquén - Veterinaria Argentina, 16: 740-746.
- Robles, C.A.; Bernard, O.; Zenocrati, L.; Marcellino, R. (2006) Encuesta serológica sobre Brucelosis en caprinos de la provincia de Mendoza. Vet. Arg. Vol. XXIV. N°233. Mayo 2007 - pág 172-185.
- Russo, A.M. y Monzón, C.M. (1998) Estudio serológico de brucelosis bovina y caprina en la provincia de Formosa, Argentina. Vet. Arg. Vol XV (150):701-709.
- Spath, E.; González, R.; González de Ríos, L.; Kuhne, G.; De Haan, H.; Condrón, R.; Guglielmone, A.; Habich, G. (1979) Estudios sobre sanidad animal en el noroeste argentino: Brucelosis caprina y humana en el departamento de La Paz, provincia de Catamarca. Gaceta Veterinaria, Vol. 41 :350-355.
- Verger, J.M. (1995) Efficacy and advantages of the Rev 1 conjunctival vaccine against *B. melitensis* infection, as evaluated in standard controlled conditions. FAO/WHO/OIE Round table on the use of Rev 1 vaccine in small ruminants and cattle. CNEVA, Alfort, France.
- WHO/FAO/OIE. (1997) The development on new/improved brucellosis vaccines. Geneva, Switzerland.
- WHO. (2003) Brucellosis in humans and animals: WHO Guidance. Department of Communicable Disease Surveillance and Control, World Health Organization, Geneva, 96 pág.