

BRUCELOSIS - INTERPRETACIÓN DEL DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO

Tomado y adaptado del Boletín Técnico Nº 2- Dr Boris Szyfres IICA/SENASA

1.- PAPEL DEL DIAGNÓSTICO Y DE LA ELIMINACIÓN DE REACCIONANTES EN EL PROGRAMA DE CONTROL

La base del Programa de Control y Erradicación de la Brucelosis Bovina es la siguiente:

- 1.- vacunación obligatoria del 100 % las terneras entre 3 y 8 meses de edad,
- 2.- diagnóstico serológico realizado a partir de muestras extraídas por el Veterinario Acreditado en Laboratorios de la Red habilitados por el SENASA para tal fin y
- 3.- eliminación de los animales positivos.

La vacuna *Brucella abortus* cepa 19 tiene un efecto antiabortivo considerable y confiere inmunidad de alto grado, pero no absoluta. La inmunidad que confiere puede ser vencida por una exposición masiva o por cepas de campo altamente virulentas. Es por ello que es conveniente además de vacunar reducir las fuentes de infección eliminando los animales reaccionantes.

2.- INFLUENCIA DE LA VACUNACIÓN SOBRE EL DIAGNÓSTICO

La vacunación tiene indudables ventajas pero también algunas desventajas. El inconveniente mayor es que la vacuna induce la formación de anticuerpos que pueden confundir el diagnóstico. Para contrarrestar este inconveniente es que se debe vacunar entre los 3 y 8 meses de edad. Cuanto más joven es el animal, menor tiempo retiene los anticuerpos debido a la vacunación. Las hembras vacunadas a los 3 meses se vuelven negativas dos meses después de la vacunación, en cambio las vacunadas a los 6 meses tardan en hacerlo 6 meses y las vacunadas a los 9 meses (fuera de la edad permitida) mantiene la clasificación de sospechosa 15 meses después de la vacunación. En términos generales se puede afirmar que el 95 % de las hembras vacunadas a los 3-8 meses se negativizan a la edad de 2 años. Otro aspecto es la infección residual por la vacuna. La cepa 19 produce en general un proceso de infección de corta duración en los animales vacunados. Sin embargo en algunos animales se ha podido comprobar una infección duradera y persistente en el tejido mamario, con aislamiento de la cepa vacunal en leche. Estos animales no pueden distinguirse de los infectados por cepas a campo mediante pruebas serológicas. Afortunadamente la proporción de estos animales es muy baja 2-3 /100.000 terneras vacunadas.

3.- DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO

Las pruebas serológicas dan una evidencia indirecta de la infección brucélica, que cuando son efectuadas en forma uniforme y se las interpreta con criterio epidemiológico constituyen el instrumento más práctico para el diagnóstico. Para poder interpretar debidamente el resultado del diagnóstico es necesario conocer la dinámica de la evolución de los anticuerpos antibrucela, la evolución de las inmunoglobulinas específicas después de la infección con una cepa virulenta de campo así como después de la vacunación con la cepa 19.

4.- LAS INMUNOGLOBULINAS EN BRUCELOSIS

El término inmunoglobulinas comprende las proteínas que poseen actividad de anticuerpo. Las principales inmunoglobulinas (Ig) que nos conciernen en Brucelosis son la M y la G. Se reconocen en el bovino dos subclases de IgG: la IgG 1 y la IgG 2. La IgG 1 es la más abundante en el suero y secreciones lácteas mientras que la IgG 2 se encuentra en concentraciones mas bajas, pero puede aumentar en determinadas circunstancias. La IgA fue poco estudiada en Brucelosis.

4.1 PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS DE LAS INMUNOGLOBULINAS

Las inmunoglobulinas IgM e IgG se diferencian entre otras características por su peso molecular, constante de sedimentación, estabilidad al calor, movilidad electroforética, resistencia al mercaptoetanol, precipitación por el rivanol que es un compuesto de la acridina e inhibición por pH bajo.

4.2 EVOLUCIÓN DE LAS INMUNOGLOBULINAS EN ANIMALES VACUNADOS E INFECTADOS.

La vacunación con la cepa 19 estimula la aparición de Ig M al cabo de unos 5-7 días y alcanzan su máxima concentración a las 2-3 semanas. Luego su concentración en el suero va reduciéndose pero sin desaparecer durante varios meses.

Las IgG aparecen casi al mismo tiempo, o algo más tarde, y alcanzan su máxima concentración de 28 a 42 días después de la vacunación. Estas inmunoglobulinas desaparecen más rápidamente que las IgM, perdurando unos 6 meses después de la vacunación de terneras jóvenes.

La infección natural o experimental con cepas de *Brucella abortus* virulentas va seguida de la formación de IgM e IgG, pero la concentración de Ig M declina, mientras que la IgG tiende a persistir todo el tiempo que el animal está infectado. En animales con Brucelosis crónica la IgG es la inmunoglobulina principal y a veces la única detectable. En consecuencia, la diferencia principal entre animales vacunados e infectados es la perdurabilidad de la IgG en estos últimos.

an las pruebas del 2 mercaptoetanol, Rivanol, Fijación de Com En el conocimiento de estos hechos inmunológicos se basplemento y otras.

4.3 PRESENTACIÓN GRÁFICA DE LA RELACIÓN DE LA EDAD DE VACUNACIÓN Y EL NIVEL Y PERSISTENCIA DE

IGG.

La vacunación de terneras con cepa 19 es obligatoria para todos los rodeos del país. En los rodeos donde se está en proceso de erradicar la infección o ya fue erradicada, interesa evitar al máximo la interferencia que puedan tener los anticuerpos originados por la vacunación con el diagnóstico de la enfermedad.

Anteriormente se expresó que cuanto más joven es el animal al vacunar tanto más rápidamente desaparecen los anticuerpos post vacunales.

Veamos la relación del tenor y persistencia de los anticuerpos IgM e IgG en relación a la edad de vacunación. Las figuras 1 y 2 muestran gráficamente la diferencia en el aspecto mencionado, cuando se vacunan terneras de 4 a 6 meses ó de 8 meses de edad.

Figura 1.- Representación esquemática de los resultados de la prueba de aglutinación con sueros de terneras vacunadas con cepa 19 entre 4 y 6 meses de edad.

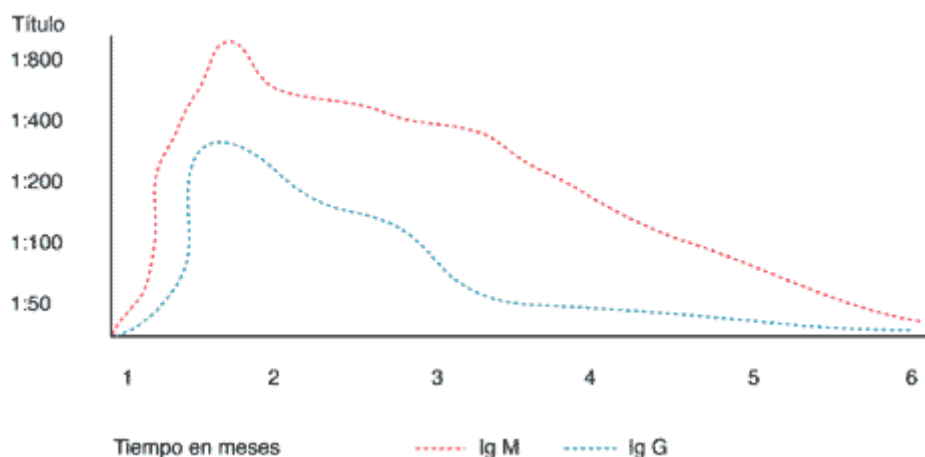
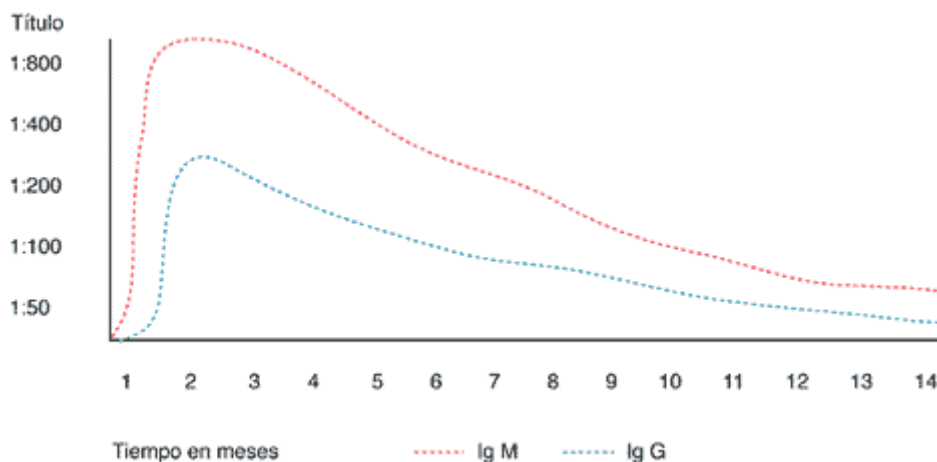


Figura 2.- Representación esquemática de los resultados de la prueba de aglutinación con sueros de terneras vacunadas con la vacuna cepa 19 a los 8 meses de edad.



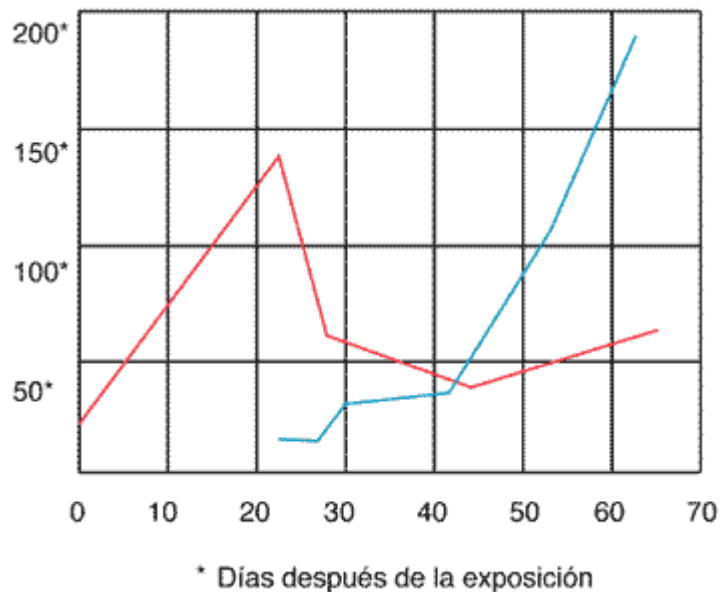
Según se puede observar, los anticuerpos a títulos significativos no solo desaparecen más rápidamente en terneras vacunadas entre 4 y 6 meses de edad, sino que el nivel de la IgG es mucho menor y menos persistente que cuando se vacunan animales a los 8 meses y con más razón a mayor edad. Vacunando a edad temprana no solamente se reduce el riesgo de títulos persistentes a la prueba de seroaglutinación, sino también a las pruebas complementarias. De ahí la recomendación de vacunar a temprana edad en los establecimientos donde se está erradicando la brucelosis.

4.4 PAUTAS DE IG M E IG G EN ANIMALES INFECTADOS NO VACUNADOS Y VACUNADOS.

Cuando un animal es infectado natural o experimentalmente, aparecen primero los anticuerpos Ig M y al poco tiempo las IgG. En la figura 3 vemos un ejemplo de una vaquillona no vacunada y expuesta a una cepa virulenta que reaccionó primero a la seroaglutinación debido a anticuerpos de la clase IgM, ya que los de la clase IgG no se habían formado todavía. Durante el curso de la infección empezaron a predominar las inmunoglobulinas G y mantuvieron un nivel más alto que las IgM. Si bien esta figura representa solo un animal y las pautas de la seroaglutinación pueden variar en diferentes individuos, de acuerdo a la dosis de exposición y vía de inoculación, el ejemplo ilustra bien que las inmunoglobulinas M se forman como una respuesta específica y son importantes para el diagnóstico, especialmente al principio de la infección.

Cuando una hembra vacunada se infecta por una cepa virulenta, los anticuerpos IgG reaparecen más pronto debido a la memoria inmunológica.

Figura 3.- Desarrollo secuencial de IgM y de IgG en una vaquillona, sin antecedentes de vacunación, expuesta a una cepa virulenta de *Brucella abortus*.



5.- EL USO DE LAS DIFERENTES PRUEBAS SEROLÓGICAS

Las pruebas serológicas se han clasificado según el uso que se les da en diferentes países en:

- 1.- Pruebas de rutina
- 2.- Pruebas complementarias
- 3.- Pruebas de vigilancia epidemiológica y
- 4.- Pruebas tamiz o de screening

Una misma prueba puede servir en un programa de prueba operativa y ser definitiva para el diagnóstico o ser la prueba tamiz o complementaria en otro programa. Esta diversidad de aplicaciones de una prueba u otra depende grandemente de la situación epidemiológica de la región o país, de la cobertura vacunal de las terneras y de la infraestructura de los servicios veterinarios especialmente la disponibilidad y calidad de los laboratorios de diagnóstico.

La eficacia de una prueba diagnóstica depende de su sensibilidad y de su especificidad, valores que miden la proporción de falsos negativos y de falsos positivos respectivamente.

5.1 SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE LAS PRUEBAS

Entendemos por sensibilidad de una prueba el grado de capacidad que tiene para detectar animales infectados por el agente específico, en nuestro caso *Brucella*. De esta manera, si la prueba que usamos da reacciones positivas en 98 animales de 100 bovinos infectados diremos que la prueba tiene 98 % de sensibilidad. El 2 % restante son " falsos negativos ". En un programa de erradicación interesa mucho que la prueba empleada sea lo suficientemente sensible para que el grado de error por " falsos negativos " sea el menor posible, ya que el objetivo es eliminar todo foco de infección de un rodeo.

Ninguna prueba es capaz de descubrir el 100 % de los bovinos infectados de todos los rodeos.

Por especificidad en cambio medimos el grado de capacidad de la prueba de detectar el mayor número de infecciones específicas y el menor número de " falsos positivos ". Una prueba altamente específica será la que de menos reacciones de " falsos positivos ". Si de 100 animales no infectados, la prueba da reacciones positivas en 5 animales, decimos que la misma tiene una especificidad del 95%. Una prueba poco específica es causa por consiguiente del sacrificio de animales sanos y de pérdidas económicas innecesarias. Ninguna prueba serológica sin embargo es 100 % específica. Si nosotros quisiéramos dar a una prueba mayor sensibilidad, disminuiría a la vez la especificidad.

6.- LAS PRUEBAS DE SEROAGLUTINACIÓN

Estas pruebas fueron y son ampliamente usadas para el diagnóstico de la brucelosis. Sin embargo cuando la proporción de rodeos infectados y la prevalencia global de la infección llegan a tasas reducidas, aparecen junto con las limitaciones de las pruebas los rodeos problema en los cuales hay que recurrir a otras pruebas para poder erradicar la enfermedad. En las pruebas de seroaglutinación predominan la reacción con las IgM. Las IgG 1 e IgG 2 difieren en su actividad. La IgG 1 tiene poco poder aglutinante, mientras que la Ig 2 es activa en la prueba.

6.1.- LOS " FALSOS POSITIVOS "

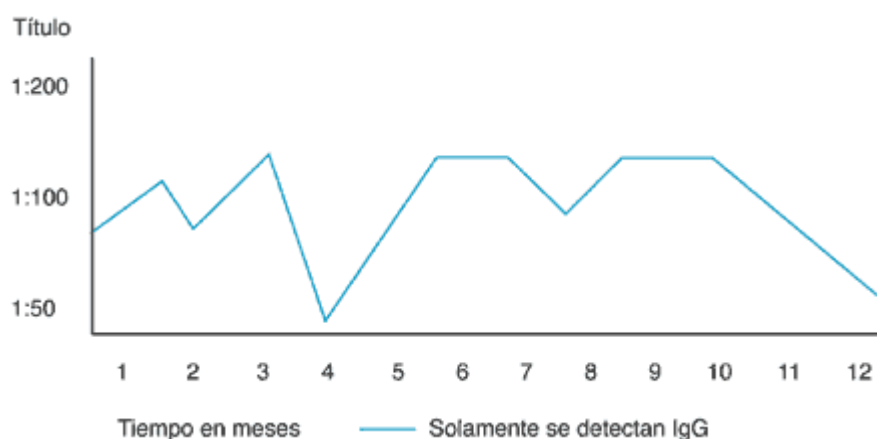
Los " falsos positivos " en las reacciones se deben a varias causas, tales como anticuerpos residuales por la vacunación con cepa 19 y reacciones cruzadas debidas a anticuerpos originados por bacterias que tienen lipopolisacáridos superficiales similares a los de *Brucella*. Ya se dijo que hay una pequeña proporción de animales especialmente los

vacunados a una edad tardía que puede mantener anticuerpos aglutinantes que persisten durante mucho tiempo. Las reacciones en estos casos se deben a la inmunoglobulina M, ya que la IgG 2 generalmente desaparece rápidamente y la IgG 1 es poca activa en la prueba y además su concentración se reduce al poco tiempo después de la vacunación. El origen de muchas reacciones inespecíficas del bovino no se conoce. Sin embargo se sabe que algunas salmonellas dan reacciones cruzadas. Se ha comprobado que hay una relación antigénica entre Brucella y Escherichia coli y con Yersinia enterocolítica.

6.2.- LOS "FALSOS NEGATIVOS"

Los "falsos negativos" en las pruebas de aglutinación se presentan durante el período de incubación es decir desde la exposición a la infección hasta la aparición de la aglutininas. En hembras expuestas por primera vez a la infección durante la gestación es frecuente que las aglutininas aparezcan varios días a dos semanas después del aborto o del parto. Además hay animales infectados que nunca alcanzan un título aglutinante significativo. De especial interés son algunos animales con infección crónica, que se encuentran en los llamados "rodeos problema" y en los cuales las IgM han bajado a un nivel no diagnóstico y casi todos los anticuerpos están constituídos por IgG. Estos animales pueden ser reconocidos por las pruebas complementarias. La figura 4 ilustra los resultados de seroaglutinación de algunas vacas de "rodeos problema".

Figura 4.- Representación esquemática de los resultados de la prueba de seroaglutinación de algunas vacas infectadas de "rodeos problema".



6.3 PROCEDIMIENTOS A SEGUIR CON HEMBRAS Y MACHOS DE REACCIÓN SOSPECHOSA

Los animales sospechosos a la prueba de aglutinación deben ser examinados en la próxima prueba general del rodeo, o si es posible antes, con el fin de clarificar su estado frente a la infección sobre la base del aumento, estabilidad o reducción del título. Si el título se incrementa es indicación que el animal está enfermo; si disminuye, se le otorga la clasificación de negativo. Más difícil es decidir sobre los animales con títulos estables del rango de sospechoso, que deberán ser eliminados o sometidos a pruebas complementarias. En toros con títulos bajos es conveniente además de las pruebas complementarias recurrir a la prueba de aglutinación en plasma seminal ya que a veces se comprueban títulos más altos en semen que en suero.

7.- ASPECTOS IMPORTANTES EN EL DIAGNÓSTICO

7.1 EL PERÍODO DE INCUBACIÓN EN LA BRUCELOSIS BOVINA

Uno de los grandes problemas en la lucha contra la brucelosis es el período prolongado y variable de incubación. El diagnóstico serológico se basa en la detección de anticuerpos humorales. Bajo las condiciones naturales de campo el intervalo entre la exposición a la infección y la aparición de anticuerpos varía ampliamente.

La experiencia ha demostrado que los principales factores que influyen en el período de incubación tanto serológica (desde la infección hasta la detección de anticuerpos a un título significativo) como clínica (desde la infección hasta el aborto) son principalmente a).- dosis de exposición; b).- virulencia de la cepa; c).- tiempo de preñez y d).- resistencia individual del animal.

En una experiencia realizada en Inglaterra con dosis diferentes de una cepa virulenta el rango de variación del período de incubación fue de 14 a 227 días correspondiendo el periodo mas corto a la dosis más alta y el mas largo a la dosis menor.

El período tan variable de incubación serológica tiene sobretodo dos implicancias a).- en el diagnóstico de animales individuales y b) en la erradicación de la infección de un rodeo.

7.2.- EL DIAGNÓSTICO EN LOS ANIMALES INDIVIDUALES

El período variable de incubación explica la poca confiabilidad que tiene el diagnóstico serológico en animales individuales, si no proceden de rodeos libres de brucelosis

Un animal individual con reacción negativa a una prueba o aún a una combinación de pruebas, no ofrece garantías si procede de un rodeo infectado, ya que puede haber sido expuesto a la infección y encontrarse en el período de incubación.

Por consiguiente es recomendable que el animal adquirido con un diagnóstico negativo de brucelosis sea mantenido en

aislamiento unos 90 días y luego sometido a un nuevo examen.

7.3.- INFLUENCIA DEL PERÍODO DE INCUBACIÓN SOBRE EL PROCESO DE ERRADICACIÓN DE LA BRUCELOSIS EN UN RODEO.

En consideración al período de incubación, es necesario repetir las pruebas en todos los animales para asegurar que no se deja un animal infectado que puede servir luego de fuente de infección al resto del rodeo. Es importante que la repetición de las pruebas se hagan con intervalo fijo de 60-90 días para no dejar tiempo a que la reinfección se siga propagando.

Teniendo en cuenta también que el periodo de incubación puede ser muy prolongado no se debe otorgar la certificación de rodeo libre en menos de 6-9 meses después de la última prueba negativa del total del rodeo.

7.4.-EL DIAGNÓSTICO EN HEMBRAS PREÑADAS Y PARIDAS

Se ha observado que un número de hembras infectantes no desarrollan anticuerpos Ig G hasta el parto o una a tres semanas después. Estos animales pueden tener títulos bajos debido a IgM unas semanas antes, pero en un rodeo vacunado con cepa 19 no hay manera de decidir si se debe a la vacunación o a una infección reciente.

Es posible que este fenómeno se deba al periodo de incubación cuando los animales son expuestos a la infección en los últimos meses de la preñez. La recomendación que se deriva de este hecho es la necesidad de repetir las pruebas a las 2-3 semanas después del parto o aborto, si las realizadas anteriormente resultaron negativas.

7.5.-EL DIAGNÓSTICO CON REFERENCIA A EDAD Y SEXO.

En los programas de erradicación se exceptúan del diagnóstico bovinos menores de 6 meses de edad. Si bien estos animales pueden infectarse por el calostro y la leche, la infección se acantona en los ganglios y se elimina espontáneamente en la mayoría de los casos. Últimamente se ha demostrado que un número no determinado pero pequeño de terneros que nacen de vacas infectadas pueden haberse infectado intrauterinamente y mantenido una infección latente, sin respuesta inmunológica, revelándose la enfermedad recién durante la primera parición o aborto, cuando acusan reacciones serológicas.

7.6 RODEOS PROBLEMA

En una pequeña proporción de rodeos, no se logra con las pruebas de rutina erradicar la infección o persiste la duda si esta fue erradicada. El término de "rodeo problema" es usado cuando se llevan a cabo procedimientos de erradicación y sin embargo continúan ocurriendo repetida o periódicamente reacciones sospechosas o positivas a la prueba del anillo en leche o a las pruebas estándar con suero sanguíneo. También pertenecen a esta categoría los rodeos sin antecedentes de infección durante años en los que ocurren reacciones positivas o sospechosas, sin haberse introducido animales infectados.

En estos rodeos problema puede haber uno o más animales con infección crónica que acusa reacciones a la aglutinación de título no significativo, por que es necesario recurrir a otras pruebas complementarias para descubrirlas.

DIAGNOSTICO DE BRUCELOSIS

El servicio Nacional de Sanidad Animal resolvió establecer un Programa de Control y Erradicación de la Brucelosis Bovina en todo el país (Resolución 1269/93) El programa considera como pruebas oficiales de diagnóstico la PRUEBA DE BPA (Prueba en placa con antígeno bufferado) SEROAGLUTINACIÓN EN TUBO (SAT prueba lenta o de Wright) 2 mercaptoetanol, RIVANOL Y FIJACIÓN DE COMPLEMENTO. La prueba de BPA se utilizará como prueba tamiz.

Es una prueba cualitativa de aglutinación en placa que presenta la ventaja de ser realizada en una sola dilución. El resultado se expresa como POSITIVO o NEGATIVO. Los animales se clasifican como negativos o reaccionantes debiendo estos últimos ser sometidos a pruebas complementarias para su diagnóstico definitivo. Los sueros que resulten positivos al BPA serán procesados por la prueba de seroaglutinación (SAT) en tubos y 2 mercaptoetanol (2-ME). Otra alternativa para los sueros positivos a BPA es la prueba de Rivanol, pero reservada para utilizarse en lugares donde se carezca de laboratorios con suficiente infraestructura o cuando por condiciones de manejo no se pueda esperar los resultados por períodos de 72 horas.

La técnica de Rivanol no debe ser empleada para animales de importación o exportación, exposiciones ganaderas o envíos a la Patagonia.

La prueba de 2 mercaptoetanol se basa en la propiedad que tiene la droga de inactivar las inmunoglobulinas IgM. Debe hacerse siempre en forma paralela y simultánea con la aglutinación lenta en tubos. La diferencia entre los títulos finales de ambas pruebas se interpreta como la capacidad aglutinante del suero debido a la presencia de anticuerpos anti IgM. La presencia de IgM se asocia generalmente con infección activa por lo que toda reacción en esta prueba debe ser considerada como indicativa de infección.

Los animales vacunados ocho o más meses antes de la realización de la prueba suelen tener solamente anticuerpos sensibles al mercaptoetanol. Los animales reaccionantes a esta prueba se deben considerar infectados aunque tengan antecedentes de vacunación, siempre que ésta haya sido efectuado por lo menos ocho meses antes.

Los resultados negativos a la prueba de 2 mercaptoetanol no son concluyentes porque en el período inicial de la enfermedad la mayoría de los anticuerpos presentes son del grupo IgM.

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS DE LAS PRUEBAS SEROLOGICAS

Dra Susana Conigliaro

GENERALIDADES

En los últimos años se ha visto un aumento significativo de las pruebas de laboratorio disponibles para el diagnóstico de

las enfermedades infecciosas bovinas.

Sin embargo a menudo no solo se utilizan técnicas que poseen diferente grado de sensibilidad y especificidad sino que a veces la misma técnica está implementada de forma distinta y se aplican criterios de interpretación diferentes.

Es por ello que consideramos útil y necesario efectuar un repaso de las principales técnicas disponibles y considerar los criterios básicos de interpretación de los resultados.

Esta información será además de especial utilidad para los veterinarios clínicos que a menudo se enfrentan a graves problemas sanitarios y deben recurrir a laboratorios confiables para poder resolverlos.

Los estudios serológicos se efectúan sobre muestras de sangre aunque algunas enfermedades se pueden estudiar sobre muestras de secreciones o líquidos tisulares. La muestra a remitir tiene que tener la calidad necesaria para la utilización óptima de los servicios que el laboratorio puede ofrecer. Defectos en la recolección de la muestra, volumen inadecuado, defectos en la conservación y envío conspiran contra un estudio adecuado y un resultado acertado.

Un animal infectado presenta inicialmente una fase de incubación y el fin de la misma coincide con la presencia de lesiones y síntomas definidos y con la aparición de anticuerpos circulantes (aunque en algunas enfermedades las lesiones son leves y los síntomas pasajeros o poco evidentes). Si no se produce la muerte, los anticuerpos irán en aumento hasta alcanzar el máximo unos 20-30 días post infección. Desde ese momento en adelante, los títulos tienden a decaer llegando a valores muy bajos, a veces no detectables por las técnicas convencionales. En otras infecciones los títulos persisten durante toda la vida útil del animal. En otros casos si bien el animal permanece serológicamente positivo, los títulos son fluctuantes.

En el laboratorio podemos analizar muestras de sangre individuales donde se estudia la circulación de los agentes infecciosos, detectando únicamente animales positivos o negativos

Si un animal ha tenido contacto con la enfermedad o ha sido vacunado, normalmente será positivo. Si estudiamos el 100 % de la población estamos haciendo un screening, lo cual es fundamental en la implementación de un programa de control o erradicación.

Si simplemente queremos conocer los problemas sanitarios de una explotación, haremos un monitoreo sobre un porcentaje de animales frente a los agentes infecciosos buscados. Este estudio solo exige una determinación a dilución única. Un monitoreo correcto hay que hacerlo sobre un 20 % de los animales "objetivo" de la explotación y debe centrarse sobre el "objetivo" que se quiere controlar, hembras de varios partos, terneros al pie de la madre, terneros de destete, hembras abortadas, etc. En una segunda etapa se pueden titular los anticuerpos y darle interpretación diagnóstica, analizando solo los seropositivos (los que han salido positivos al screening). Los picos de alto título corresponden por lo general a enfermedad. Este estudio exige realizar diluciones de cada suero, sin embargo es la única forma de interpretar de manera confiable el título y por lo tanto la evolución de la enfermedad o la protección de una vacuna.

En algunos casos se puede hacer un estudio retrospectivo (estudiar los títulos de un par de sueros de varios animales tomados con un intervalo de 2 o 3 semanas entre sí) para averiguar la evolución del título de anticuerpos en el tiempo. Es fundamental procesar todos los sueros el mismo día. Los resultados de este estudio van a depender de la elección de los animales a sangrar y del agente infeccioso. Por ejemplo si los animales son terneros de más de 30 días y sin vacunar o vacunados hace tiempo, la evolución de los títulos de anticuerpos debería ser plana. Si hay aumento de título de anticuerpos y no hubiera por medio ninguna vacunación, son sospechosos de una nueva infección. Hay que destacar que el estudio de "sueros pareados" en vacas abortadas con fecha de aborto desconocida no nos va a dar ninguna información ya que han podido seroconvertir en el momento de la primera toma de muestra.

Para numerosas enfermedades las pruebas serológicas constituyen el instrumento de diagnóstico de elección. Estas pruebas determinan la frecuencia y distribución de un agente infeccioso en determinada población a través de la detección de anticuerpos específicos en el suero sanguíneo o reacciones inmunitarias en los animales en estudio. Un resultado positivo solo indicaría entonces la exposición del animal en cuestión al agente en algún momento de su vida previo al estudio, pudiendo encontrarse al momento de la prueba en periodo de incubación, enfermo, recuperándose o inclusive sano. Una vacunación con microorganismos muertos, atenuados o modificados también puede dar un resultado positivo, lo mismo que cuando el animal ha recibido anticuerpos maternos contra el agente. Cualquiera sea la técnica empleada en nuestro país aún resulta imposible diferenciar anticuerpos de origen infeccioso de aquellos de origen vacunal.

Por otra parte existe una serie de resultados de las pruebas serológicas que pueden deberse meramente a la existencia de mecanismos de defensa contra un agente distinto al que se está investigando pero que tiene alguna semejanza antigénica y produce reacciones cruzadas. Positividad no es sinónimo de enfermedad en la totalidad de los casos. Un animal puede resultar negativo cuando realmente está infectado y viceversa, si lo reciente de la infección no ha permitido aún el adecuado desarrollo de anticuerpos, o lo crónico de la enfermedad lo ha hecho pasar a un estado de anergia.

Un título elevado no siempre corresponde necesariamente a una enfermedad en evolución o una enfermedad reciente.

El resultado del estudio serológico expresa la cantidad de anticuerpos presente en una muestra (título de anticuerpos). La serología no tiene valor diagnóstico si no demuestra aumento significativo del título entre el 1º y 2º muestreo, tomando la primera muestra al inicio de la enfermedad y la segunda 15-30 días después.

El estudio serológico puede ser cualitativo, indicando sólo la presencia o ausencia de anticuerpos o cuantitativo, donde se efectúan una serie de diluciones en progresión geométrica y el resultado está dado por la fracción que representa la última dilución, en la que se observa el fenómeno investigado.

BRUCELOSIS

La técnica de BPA es una prueba tamiz cuyo resultado se expresa como NEGATIVO O POSITIVO, lo que significa que los animales son NEGATIVOS ó REACCIONANTES, debiendo estos últimos ser sometidos a pruebas complementarias para su diagnóstico definitivo. Los sueros que resulten positivos a BPA serán procesados por la técnica de SAT (seroaglutinación en tubo ó Wright) y 2 mercaptoetanol.

Los animales reaccionantes a la prueba de 2 mercaptoetanol (que fueron vacunados entre los 3 y 8 meses de edad) se deben considerar infectados, es decir que no se debe aceptar ningún título a 2 mercaptoetanol.

Los animales que resulten negativos a 2 mercaptoetanol y tengan títulos de 1/25 o 1/50 a SAT se consideran negativos. Los animales que siendo negativos a 2 mercaptoetanol presenten títulos de 1/100 a SAT, se consideran sospechosos y deberán ser sangrados nuevamente pasados 20-30 días para comprobar su negatividad, de lo contrario se trata de un animal potencialmente positivo, y los que presentan título de 1/200 a SAT se consideran positivos aunque sean negativos a 2 mercaptoetanol.

Los resultados negativos a la prueba de 2 mercaptoetanol se consideran negativos en ese momento, pero si están en el periodo de incubación de la enfermedad aparecen negativos porque aún no pueden detectarse anticuerpos circulantes, de ahí la necesidad de realizar muestreos periódicos.

Para la interpretación de los resultados de Brucelosis es necesario tener muy en cuenta la edad de los animales en el momento de la realización del análisis y la edad a la que fueron vacunados ya que los animales vacunados por encima de la edad de 8 ó 9 meses mantienen anticuerpos durante más tiempo.

RINOTRAQUEÍTIS INFECCIOSA BOVINA (IBR) Y/O DIARREA VIRAL BOVINA (BVD)

El título de anticuerpos se informa como negativo (cuando no hay anticuerpos) o positivo (cuando hay presencia de anticuerpos en cantidades variables según las diluciones realizadas y la técnica empleada). La presencia de anticuerpos está indicando contacto con el virus y respuesta del individuo con formación de anticuerpos, pero no es posible saber si se debe a un contacto con el virus infeccioso causa de enfermedad o un virus vacunal.

En el diagnóstico por inmunofluorescencia de muestras individuales, los resultados se informan como positivos o negativos.

El diagnóstico por la prueba de seroneutralización en una prueba cualitativa (que es la que se utiliza por ejemplo para los toros de los centros de inseminación artificial) se informa como positivo (cuando se detectan anticuerpos neutralizantes) o negativos (cuando no se encuentran anticuerpos).

En caso de contar con muestras pareadas se puede realizar un estudio cuantitativo haciendo diluciones del suero problema. El resultado es el índice de seroneutralización, que expresa el logaritmo de la inversa de la dilución que neutraliza 100 partículas virales en 1 ml de virus.

En el caso de utilizar la técnica de inmunofluorescencia para muestras pareadas, las diluciones que se realizan son 1/5, 1/10, 1/20 y 1/40. Los títulos 1/10, 1/20, 1/40 se consideran positivos e indican contacto con el virus y la consiguiente respuesta de anticuerpos. El título 1/5 expresa escasa cantidad de anticuerpos o a veces puede indicar inespecificidad por lo cual como dato aislado no se debe tener en cuenta y se sugiere repetir el análisis 20 días después.

El diagnóstico por medio de la prueba de Elisa se expresa como positivo o negativo.

En el caso de BVD algunos terneros puedan llegar a nacer después de un proceso infeccioso de la madre en las primeras etapas de gestación lo que los convierte en inmunotolerantes (animales persistentemente infectados). Esto es, no seroconvierten (no aparecen anticuerpos en sangre), pero excretan virus. Estos animales al no reconocer el virus como cuerpo extraño (dado que la infección fue antes de que se desarrollara su sistema inmune) no producen o producen pocos anticuerpos, por lo que su detección mediante pruebas serológicas se complica. Normalmente estos terneros mueren antes de los dos años de vida. Es decir que en el caso de diagnóstico de virus de BVD una muestra negativa no siempre indica ausencia de contacto viral.

PARAINFLUENZA 3 (PI3)

El diagnóstico serológico para virus de PI3 se realiza por la técnica de inhibición de la hemoaglutinación (IHA) que mide la cantidad de anticuerpos capaces de inhibir la actividad hemoaglutinante del virus de PI3. Los resultados se expresan en unidades inhibidoras de la hemoaglutinación (UIHA) y se interpretan de la siguiente forma:

Hasta 80 UIHA: negativo

Entre 80 y 320 UIHA: exposición previa al virus de PI3

640 ó más UIHA: infección reciente al virus de PI3.

LEPTOSPIROSIS

El diagnóstico serológico de leptospirosis se realiza por medio de la técnica de microaglutinación de Martín y Pettit. Se realizan diluciones en base 2 desde una dilución inicial 1/200 hasta la última dilución que presenta título aglutinante. En el diagnóstico de leptospirosis es fundamental contar con muestras pareadas ya que se encuentra a menudo que la mayoría de los animales muestrados presentan títulos hemoaglutinantes bajos a la serovar Wolffi. También es necesario considerar que los anticuerpos protectores que confieren las vacunas son anticuerpos neutralizantes, mientras que los anticuerpos detectados por la prueba de Martín y Pettit son anticuerpos aglutinantes.

NEOSPOROSIS

El diagnóstico de esta enfermedad causada por el parásito Neospora caninum, se puede realizar por medio de la técnica de inmunofluorescencia indirecta. El resultado se expresa como

negativo, cuando no se detectan anticuerpos,
sospechoso, cuando se encuentran anticuerpos en la dilución 1/320 recomendándose repetir en análisis 15-20 días después,

positivo cuando se encuentran anticuerpos en la dilución 1/640 o más.

Los resultados deben analizarse en el contexto del rodeo donde se realiza el estudio. Si en un rodeo con antecedentes de abortos se encuentra un 20-30 % de animales positivos, es posible considerar a Neospora como la causa de los mismos. Por otro lado si solamente el 5 % de los sueros analizados resultaran positivos es muy probable que la causa de los abortos sea otra.

CONCLUSIONES

Para una mejor comprensión se describen a continuación las situaciones que a menudo se presentan en el estudio serológico.

Estudio serológico realizado sobre una muestra única.

Resultado NEGATIVO

- a).- Ausencia de contacto con el agente investigado
- b).- Animal en período de incubación de la enfermedad
- c).- Vacunación realizada recientemente

Resultado POSITIVO

- a).- Hubo contacto con el agente investigado, haya o no expresión clínica de la enfermedad
- b).- Animal vacunado contra el agente investigado
- c).- Presencia de anticuerpos calostrales

ESTUDIO SEROLÓGICO REALIZADO SOBRE MUESTRAS PAREADAS

1º muestra NEGATIVA / 2º muestra POSITIVA**Seroconversión**

- a).- Vacunación entre 1º y 2º muestreo
- b).- Infección entre 1º y 2º muestreo
- c).- Animal incubando en el 1º muestreo con enfermedad en posterior evolución

1º muestra NEGATIVA / 2º muestra NEGATIVA

El agente investigado no es la causa del problema
Ausencia de contacto con el agente investigado

1º muestra POSITIVA / 2º muestra NEGATIVA

Fin de la infección
Desaparición de anticuerpos vacunales
Desaparición de anticuerpos calostrales

1º muestra POSITIVA / 2º muestra POSITIVA

1º MUESTRA MAYOR QUE LA 2º
Caída de anticuerpos calostrales
Caída de anticuerpos vacunales
Animal convalesciente

1º MUESTRA MENOR QUE LA 2º

Afección clínica o subclínica en evolución
Incremento de anticuerpos vacunales

1º MUESTRA IGUAL A LA 2º

Infección estabilizada
Anticuerpos vacunales estabilizados.

ETAPA	ESTRATEGIA OPERATIVA	TIEMPO DE DURACION TOMADO DESDE LA FECHA DE LANZAMIENTO DEL PLAN	CATEGORIZACION DEL ESTABLECIMIENTO	CODIGO DE EXIGENCIAS
I	CONFORMACION DE LA UNIDAD EJECUTORA LOCAL	Hasta los CIENTO OCHENTA (180) días	LIBRE SANEADO EN SANEAMIENTO FUERA DE PLAN	1 2 (+) 2 (+) 2 (+)
II	INSCRIPCION DE LOS PRODUCTORES EN EL PROGRAMA	Desde los CIENTO OCHENTA (180) días. Hasta los TRESCIENTOS SESENTA Y CINCO (365) días	LIBRE SANEADO EN SANEAMIENTO FUERA DE PLAN	1 2 2 2
III	EJECUCION DE TAREAS DE SANEAMIENTO Y CERTIFICACION	Desde UN (1) año Hasta los TRES (3) años	LIBRE SANEADO EN SANEAMIENTO FUERA DE PLAN	1 2 2 4
IV	CERTIFICACIONES Y RECERTIFICACIONES	Más de TRES (3) años	LIBRE SANEADO EN SANEAMIENTO FUERA DE PLAN	1 2 3 4

PRUEBAS DIAGNOSTICAS INTRADERMICAS

- a) Prueba ano-caudal de rutina.
- b) Prueba cervical simple de saneamiento.

LAS TUBERCULINAS

Las tuberculinas que se podrán usar para los animales son el derivado proteico purificado de tuberculina bovina (PPD), elaborada con Mycobacterium bovis y la PPD aviar, elaborada con una cepa de M. avium.
Las únicas tuberculinas PPD autorizadas en el país, son las elaboradas por el SENASA y las producidas por los laboratorios particulares que fueron controladas y aprobadas por ese Organismo.
Las tuberculinas PPD deben ser transportadas y conservadas en frío (+2 a +8 Cº) y protegidas de la luz solar directa durante el trabajo de campo. Una vez utilizado parte del reactivo, debe descartarse el resto si no se va a usar en el mismo día.

PROCEDIMIENTOS PARA LA APLICACION DE LAS TUBERCULINAS

Instrumental: jeringas, agujas y calibradores.

Las jeringas serán de pequeño volumen, graduadas en cero con un (0,1) mililitro. Las agujas serán hipodérmicas, conforme a normas IRAM 9031/78, calibre SEIS (6), longitud de la cánula cinco (5) milímetros, punta tipo "b" (bisel corto). Podrán utilizarse agujas descartables de similares características o de mayor longitud de cánula. Para las pruebas tuberculínicas de animales difíciles de inmovilizar, podrán usarse agujas más cortas. Los calibradores metálicos o plásticos estarán graduados al cero con un (0,1) milímetro.

La técnica de aplicación de la tuberculina.

- a) Un ayudante debe inmovilizar al animal con una mocheta o por otros medios.
- b) Se deben usar sólo jeringas y agujas sanas.
- c) En las inoculaciones para la prueba cervical, se corta el pelo de la región a inyectar y se mide el pliegue con un calibrador.
- d) Si la piel de la tabla del cuello o del pliegue ano-caudal esta sucia, se debe limpiar el lugar de la inyección, evitando el uso de desinfectantes o productos químicos que irriten la piel.
- e) Una vez inmovilizado el animal y limpiado el lugar de la inyección, se procede a insertar la aguja en toda su longitud en las capas superficiales de la piel. Se debe tener cuidado de no traspasar la piel con la punta de la aguja. Se debe retirar apenas la aguja e inyectar cero con un (0,1) mililitro de tuberculina. La aguja será retirada cuidadosamente y si es necesario apretando entre el pulgar y el índice la región inyectada, para prevenir la pérdida de alguna parte de la dosis. Si la inyección fue bien aplicada, en el lugar inoculado debe aparecer una pápula.
- f) No utilizar sobrantes de tuberculina de un día para otro.

Técnica de lectura de las pruebas

- a) Hacer la lectura a las setenta y dos (72) horas después de la inoculación.
- b) Inmovilizar el animal y verificar su identidad, ya sea por el número de tatuaje, número a fuego u otra identificación indeleble.
- c) Medir el pliegue inoculado con el calibrador y anotar el engrosamiento, comparando con la medida previa del pliegue se calculara por diferencia el aumento del grosor. Toda reacción observada en las pruebas tuberculínicas debe ser anotada en un protocolo de la prueba tuberculínica. El registro de las respuestas a la tuberculina es importante para las pruebas ulteriores del mismo rodeo y para la evaluación del plan de erradicación en el área.
- d) Seguir las pautas de interpretación de cada una de las pruebas para clasificar los animales.

LA PRUEBA TUBERCULINICA DE RUTINA

La prueba tuberculínica básica operativa o de rutina será la intradérmica, aplicada en el tercio medio del pliegue ano-caudal interno, a unos seis (6) centímetros. de la base de la cola y en el centro del pliegue. La inyección se hará con cero con un (0,1) mililitro. de tuberculina PPD bovina de uno con cero (1,0) miligramo por mililitro de concentración, previa limpieza de la región, sin usar sustancias químicas irritantes. La aguja debe insertarse intradérmicamente en toda su longitud en las capas superficiales de la piel, retirarla un poco e inyectar la tuberculina. En una inyección bien aplicada aparecerá una pápula en el sitio inoculado.

La lectura de las reacciones se hará a las setenta y dos (72) horas después de la inyección de la tuberculina, levantando la cola hasta estirar ligeramente el pliegue. En los casos de impedimento por razones climáticas u otras causas, la misma podrá hacerse hasta veinticuatro (24) horas más tarde.

Con el índice y el pulgar de la otra mano, se palpa el pliegue para comprobar si hay engrosamiento, tomando la medida exacta con el calibre.

LA INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS DE LA PRUEBA TUBERCULINICA DE RUTINA

El Veterinario que realiza la prueba tuberculínica de rutina en un rodeo, tiene que actuar con criterio epidemiológico, tomando en cuenta la totalidad del rodeo y no interpretar los resultados en base a los animales considerados aisladamente.

En la primera prueba, cuando se desconoce si el rebaño esta infectado o no, se aplicara el siguiente criterio general:

Positivo: un engrosamiento de la piel de cinco (5) milímetros o mayor de cinco (5) milímetros.

Sospechoso: un engrosamiento de tres (3) milímetros o más, y menos de cinco (5) milímetros.

Negativo: menos de tres (3) milímetros.

En un rodeo pueden presentarse las tres (3) situaciones siguientes:

- a) En ninguno de los animales del rodeo se observan reacciones mayores de tres (3) milímetros. Se considerara el rodeo no infectado.
- b) El profesional comprueba que en el rodeo hay solamente reaccionantes de tres (3) milímetros a cinco (5) milímetros y no hay animales con una reacción mayor de cinco (5) milímetros. En tal caso se clasificará el rodeo como Rodeo Sospechoso. Para dilucidar su estado podrá optar por remitir los animales sospechosos a sacrificio y si no se comprobaran lesiones tuberculosas en el post-mortem, se considerará el rodeo como no infectado, o procederá a una segunda prueba ano-caudal a los sesenta (60) días de la primera, en todos los animales que acusaron reacción. La interpretación será la siguiente:
 - b.1. Si estos animales acusaron una pronunciada reducción en el tamaño de las reacciones, se los podrá clasificar como negativos, siempre que en el grupo no hubiera ningún animal reaccionante positivo. Si tal fuera el caso, considerará el rodeo como no infectado.
 - b.2. Si los animales presentaron el mismo tamaño de reacción se mantendrá la clasificación de sospechosos hasta un tercer examen definitivo a los sesenta (60) días del segundo.
 - b.3. La tercera prueba será concluyente y todo animal que tuviera una reacción de tres (3) milímetros o mayor, será clasificado reaccionante y el rodeo como infectado, a menos que los animales sospechosos fueran sacrificados y no se comprobaran lesiones tuberculosas.
- c) El profesional observará en el rodeo animales con reacciones grandes, tales como cinco (5) milímetros o más, o si existieran antecedentes de infección en el rodeo, considerará este como infectado y aplicará un criterio estricto, clasificando todos los animales con tres (3) milímetros o más, como positivos. En los animales lecheros y razas dóciles, se recomienda, en los controles posteriores, el uso de la prueba cervical simple.

LA PRUEBA CERVICAL SIMPLE

La sensibilidad de la prueba cervical es superior a la del pliegue ano-caudal, ella se aplica con el fin de obtener una mayor seguridad en la eliminación de bovinos infectados en rodeos en los que ya se ha comprobado la infección. Para la prueba, el establecimiento necesita contar con instalaciones adecuadas que aseguren una correcta sujeción de los animales.

El lugar de inoculación es el tercio medio del cuello. Se corta el pelo a maquina o tijera en el lugar de la inyección, en un área de unos cinco (5) a seis (6) centímetros cuadrados, se mide con un calibre el espesor de la piel y se registra en el protocolo. Previa limpieza se aplica la inyección con una jeringa de tuberculina de uno con cero (1,0) ó de cero con cinco (0,5) mililitros de capacidad, o bien con una jeringa automática de precisión. Se inocula intradérmicamente cero con uno (0,1) mililitros de tuberculina PPD bovina (un (1) miligramo por mililitro) y se hace la lectura a las setenta y dos (72) horas de la inyección, midiendo con un calibrador el espesor de la piel.

INTERPRETACION DE LA PRUEBA CERVICAL SIMPLE

Todo aumento de tres (3) milímetros o más de la piel en el lugar inoculado, se considera como positivo, un engrosamiento menor que tres (3) milímetros se considera negativo. En esta prueba existen sólo dos (2) clasificaciones: N* negativo y R* reaccionante positivo.

LOS PROCEDIMIENTOS A NIVEL DE ESTABLECIMIENTOS EN EL PROGRAMA DE CONTROL Y ERRADICACION

1. CABAÑAS Y/O ESTABLECIMIENTO LECHERO

A partir de la formación de la Unidad Ejecutora Local (UEL), los cabañeros y/o productores lecheros deberán inscribirse en las respectivas UEL, designando al Veterinario acreditado. Dicha inscripción deberá ser realizada en un lapso no mayor de un (1) año, realizando una prueba tuberculínica al total de los animales del rodeo, mayores de seis (6) meses de edad.

2. ESTABLECIMIENTO DE CRIA E INVERNADA.

A partir de la formación de la UEL, los productores deberán inscribirse a la etapa de saneamiento en un lapso no mayor de dos (2) años, con la designación de un Veterinario acreditado y la realización de una prueba tuberculínica al total de los animales del rodeo, mayores de seis (6) meses de edad.

A partir de los sesenta (60) días del lanzamiento del Plan Nacional, los reproductores (machos y hembras) con destino a venta directa, remates ferias, cabañas y/o exposiciones, deberán poseer certificado de una tuberculización con resultado negativo, efectuada por veterinario acreditado y realizada en un lapso previo no mayor de sesenta (60) días.

PROCEDIMIENTOS A SEGUIR SI SE ENCONTRARAN SOLO REACCIONANTES SOSPECHOSOS Y NO POSITIVOS

Si en la prueba resultaran algunos animales con reacciones sospechosas, sin haber reaccionantes positivos, el veterinario procederá de la siguiente forma:

A los sesenta (60) días de la primera prueba, someterá a un nuevo examen a los animales sospechosos y si estos siguieran dando reacciones sospechosas, los remitirá a faena, recomendando un minucioso examen post-mortem.

Si se comprobaran lesiones, se remitirá la pieza patológica a la Dirección de Laboratorios y Control Técnico del SENASA para el diagnóstico anatomopatológico y bacteriológico. Si no se encontraran lesiones, se remitirán al laboratorio los ganglios del tracto respiratorio, los de cabeza y los mesentéricos.

PROCEDIMIENTO A SEGUIR CUANDO SE ENCUENTREN ANIMALES TUBERCULINO POSITIVOS

Si en la primera prueba el veterinario encontrara animales positivos a la prueba ano-caudal, podrá repetir las inoculaciones en la categoría de bovinos correspondiente cada sesenta –noventa (60-90) días, hasta obtener resultado negativo. Luego de dos (2) pruebas negativas el Veterinario Acreditado con el productor podrá solicitar al SENASA, la certificación de Establecimiento Oficialmente Libre.

Para acelerar el saneamiento en un rodeo, el Veterinario actuante podrá recurrir a la prueba cervical simple. En todo caso, el diagnóstico deberá ser más estricto en la interpretación de las pruebas

DESTINO DE LOS ANIMALES REACCIONANTES

Los animales que resulten positivos a la prueba de tuberculina, no deben ser sometidos a nuevas pruebas tuberculínicas y el destino final de los mismos es faena.

LIMPIEZA Y DESINFECCION DE LAS INSTALACIONES

Al remover los animales reaccionantes de un establecimiento, el veterinario actuante tiene la obligación de supervisar la limpieza y desinfección de los pisos, paredes y otras superficies de los galpones de ordeño o de otras estructuras donde se encontraban los reaccionantes. Los bacilos tuberculosos pueden sobrevivir durante mucho tiempo donde se acumule la suciedad y el polvo, constituyendo fuentes de infección para los animales y el hombre. El procedimiento es el siguiente:

- a) Cepillar a fondo las superficies con agua (preferentemente caliente) conteniendo cero con cinco por ciento (0,5%) de detergente.
- b) Enjuagar con agua limpia.
- c) Desinfectar con desinfectantes fenólicos tales como tricresol (ácido cresílico) al tres por ciento (3%) o fenol (conteniendo ortofenil fenol) al cinco por ciento (5%).
- d) Se recomienda que en lo posible roten potreros, para que los lugares donde estuvieron animales reaccionantes queden despoblados por el mayor tiempo posible, siempre que el manejo del establecimiento lo permita, aproximadamente sesenta - noventa (60-90) días.

Es conveniente que a la entrada de los galpones de ordeño, se coloque una (1) caja de sesenta (60) centímetros por cuarenta y cinco (45) centímetros por quince (15) centímetros, con aserrín o un acolchado de material esponjoso con la solución desinfectante.

RECERTIFICACION DE ESTABLECIMIENTO LIBRE DE TUBERCULOSIS BOVINA

Los certificados serán renovados anualmente, previa prueba tuberculínica negativa de todos los animales del rodeo, de más de veinticuatro (24) meses de edad y de los que hayan sido adquiridos durante el año anterior. En caso de comprobarse un animal positivo o sospechoso a la prueba tuberculínica, el certificado quedará en suspenso hasta tanto no se aclare la situación del rodeo por los exámenes post-mortem de los reaccionantes y por los resultados de la investigación de laboratorio.

CONTROL DEL MOVIMIENTO DE HACIENDA

1. PARA VENTA Y/O TRASLADO

SE ESTABLECEN TRES CATEGORIAS:

1. Establecimiento Oficialmente Libre:

No tiene restricción al movimiento de bovinos.

2. Establecimiento en Saneamiento:

A partir de los trescientos sesenta y cinco (365) días de iniciado el plan, los animales que egresen de establecimientos lecheros deberán realizar la prueba diagnóstica tuberculínica, la que tendrá una validez de sesenta (60) días anteriores al despacho de la tropa. Dicha prueba deberá dar resultado negativo. En los rodeos de cría, la medida se implementará a partir de los dos (2) años de iniciado el plan. Para los animales que se destinen directamente a faena no será obligatoria la realización de la prueba tuberculínica previa al embarque.

3. Establecimiento Sin Saneamiento:

A partir de los trescientos sesenta y cinco (365) días de iniciado el plan, los animales que egresen de establecimientos lecheros, deberán realizar dos (2) pruebas diagnósticas tuberculínicas con sesenta (60) a noventa (90) días de intervalo entre ellas, previo a la fecha de embarque de animales, con resultados negativos, sin importar el destino de los mismos. En los rodeos de cría, dicha medida se implementará a partir de los dos (2) años de iniciado el plan.

VIGILANCIA EPIDEMIOLOGICA

1. Control en frigoríficos

Cuando se detecte en la faena de bovinos lesiones compatibles con Tuberculosis, se deberá identificar la tropa de origen y notificar de inmediato al productor y veterinario acreditado a fin de implementar las acciones de saneamiento correspondientes.

2. Los establecimientos oficialmente libres de tuberculosis bovina

Deberán comunicar a la UEL en la cual se encuentren registrados, todo ingreso de animales al mismo, los que serán sometidos al tratamiento previsto. En caso de encontrarse reaccionantes entre los ingresados y de comprobarse su contacto con otros animales del rodeo, el establecimiento perderá su condición de Libre, hasta que toda su existencia resulte nuevamente negativa a dos (2) pruebas tuberculínicas controladas por el personal del SENASA con sesenta (60) a noventa (90) días de intervalo.

3. Exposiciones ganaderas

Todo reproductor macho o hembra que concurra a una exposición deberá estar provisto de un certificado expedido por Veterinario Acreditado que certifique haber efectuado la prueba tuberculínica con resultado negativo. Las mismas tendrán que ser efectuadas sesenta (60) días antes de la realización del certamen con el fin de permitir la verificación de los resultados y de la identidad de los animales concurrentes a la exposición, con una prueba intradérmica si se considera necesario.

4. Centros de Inseminación Artificial

Todo reproductor que ingrese a un centro de inseminación artificial deberá estar provisto de un certificado de negatividad a la prueba tuberculínica realizada treinta (30) días como mínimo antes del embarque. En el período de cuarentena, al reproductor aislado del resto del rodeo, le será efectuada nuevamente una prueba tuberculínica con sesenta (60) días de intervalo como mínimo de la prueba realizada anteriormente. Si la misma resulta negativa el reproductor podrá ingresar al centro.

Los toros dadores de semen juntamente con los señuelos ó montas que se encuentren como residentes en un centro de inseminación artificial tendrán que estar certificados oficialmente libres de tuberculosis bovina.

El reproductor que reaccione positivo a la prueba tuberculínica será dado de baja en su condición de dador de semen y retirado de inmediato del centro. El material seminal producido desde el último análisis negativo quedará interdicto y será destruido por esterilización.

GUIA PARA EL SANEAMIENTO DE LA TUBERCULOSIS BOVINA EN UN RODEO

Situación sanitaria del rodeo. Respecto de la tuberculosis	Prueba tuberculínica a utilizar. Lugar de inoculación, dosis y tiempo de lectura.	Interpretación por formación de pápula, aumento de espesor de piel en milímetros.
<p>1. DESCONOCIDA: No existen registros ni estudios previos.</p>	<p>Prueba de rutina ano-caudal, CERO CON UN (0,1) mililitros intradérmica en el tercio medio del pliegue del ano. Lectura: SETENTA Y DOS (72) horas.</p>	<p>POSITIVO: Engrosamiento de CINCO (5) milímetros ó más. SOSPECHOSO: Engrosamiento de TRES (3) milímetros ó menos de CINCO (5) milímetros. NEGATIVO: Engrosamiento de menos de TRES (3) milímetros.</p>
<p>2. INFECTADO: Con tuberculosis comprobada por pruebas de rutina positivas, lesiones a necropsia ó por la historia sanitaria del rodeo</p>	<p>ALTERNATIVA A: Repetir prueba de rutina ano-caudal a todo animal mayor de SEIS (6) meses, entre los SESENTA (60) y NOVENTA (90) días, CERO CON UN (0,1) mililitros intradérmica en el tercio medio del pliegue .</p>	<p>POSITIVO: Engrosamiento de TRES (3) milímetros o más. NEGATIVO: Engrosamiento menos de TRES (3) milímetros.</p>
	<p>ALTERNATIVA B: Para acelerar saneamiento: prueba cervical simple, tercio medio de la tabla del cuello. Aprox. A QUINCE (15) centímetros por debajo del borde superior, CERO CON UN (0,1) mililitros intradérmico. Lectura: SETENTA Y DOS (72) horas.</p>	<p>POSITIVO: Engrosamiento de TRES (3) milímetros ó más. NEGATIVO: Engrosamiento de menos de TRES (3) milímetros.</p>
<p>3. SOSPECHOSO: Sólo se encontraron reactivos sospechosos a una prueba ano-caudal de rutina, no existiendo reacciones de CINCO (5) milímetros o mas.</p>	<p>ALTERNATIVA A: Sacrificar los animales sospechosos para comprobar si existen lesiones tuberculosas ó se aísla la microbacteria por cultivo.</p>	<p>NEGATIVO: Si no se encuentran lesiones tuberculosas al sacrificio, ni se encuentra al agente en el examen de laboratorio. INFECTADO: Si se encuentran lesiones y se aísla M. Bovis por cultivo en laboratorio</p>
	<p>ALTERNATIVA B: Repetir Prueba ano-caudal a todo sospechoso entre los SESENTA (60) a NOVENTA (90) días. CERO CON UN (0,1) mililitros intradérmica, en el tercio medio del pliegue. Lectura SETENTA Y DOS (72) horas.</p>	<p>NEGATIVO: Si disminuye sensiblemente el tamaño de las reacciones. SOSPECHOSO: Si persiste el mismo tamaño de reacciones .</p>
	<p>ALTERNATIVA C: Repetir la prueba ano-caudal SESENTA (60) a NOVENTA (90) días después. CERO CON UN (0,1) mililitro intradérmica, tercio medio del pliegue. Lectura: SETENTA Y DOS (72) horas.</p>	<p>INFECTADO: Si aumenta el tamaño de las reacciones. NEGATIVO: Si disminuye sensiblemente el tamaño de las reacciones. INFECTADO: Si persiste mismo tamaño de reacciones.</p>
<p>4. NEGATIVO: Sólo se comprobaron reacciones menores de TRES (3) milímetros a las</p>	<p>Repetir pruebas a SESENTA (60) a NOVENTA (90) días. CERO CON UN (0,1) mililitros intradérmico. Lectura SETENTA Y DOS (72) horas.</p>	<p>RODEO OFICIALMENTE LIBRE DE TUBERCULOSIS: Dos pruebas consecutivas con SESENTA (60) a NOVENTA (90) días de intervalo como mínimo, con supervisión de SENASA.</p>