



**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA
PROGRAMA DE POSGRADOS
POSGRADO ACADÉMICO**

TESIS DE MAESTRÍA EN SALUD ANIMAL

**Brucelosis bovina: evaluación de los sistemas de
vigilancia epidemiológica aplicados en Uruguay**

Dr. Pablo Charbonnier

Montevideo, noviembre de 2019



UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA
PROGRAMA DE POSGRADOS

POSGRADO ACADÉMICO
TESIS DE MAESTRÍA EN SALUD ANIMAL



**Brucelosis bovina: evaluación de los sistemas de
vigilancia epidemiológica aplicados en Uruguay**

Dr. Andrés D. Gil MSc PhD
Director de Tesis

Dr. José Piaggio MSA
Co-director

**INTEGRACIÓN DEL TRIBUNAL
DE DEFENSA DE TESIS**

ACTA DE DEFENSA DE TESIS

 UNIVERSIDAD DE LA REPUBLICA
 FVET Facultad de Veterinaria
Universidad de la República
Programa de Posgrados

FACULTAD DE VETERINARIA
Programa de Posgrados

ACTA DE APROBACIÓN DE TESIS
DE MAESTRÍA EN SALUD ANIMAL


Por: Dr. Pablo CHARBONNIER BENECH


Brucelosis bovina: Evaluación de los sistemas de vigilancia epidemiológica aplicados en Uruguay.


Director de Tesis: Dr. Andrés Gil

Codirector de Tesis: Dr. José Piaggio

Tribunal

Presidente: Dr. Álvaro Núñez 

Segundo Miembro: Dr. Luis Samartino 

Tercer Miembro: Dr. Federico Fernández 

Fallo del Tribunal APROBADO CON MENCIÓN

Salón de Posgrado
Viernes 20 de diciembre de 2019

El Fallo de aprobación de la Tesis puede ser: Aprobada (corresponde a la nota BBB- en el Acta), o Aprobada con Mención (corresponde a la nota SSS- 12 en el Acta)

INFORME DEL TRIBUNAL

AGRADECIMIENTOS

Son múltiples los agradecimientos, comenzando con mi Tutor y Co-tutor por el apoyo, por guiarme, generando el constante interés por seguir aprendiendo y poder participar en esta investigación que se encuentra en el marco de un proyecto que tiene gran importancia para seguir avanzando en la campaña sanitaria de la Brucelosis bovina.

A la Facultad de Veterinaria que me dio la posibilidad de formarme en esta profesión desde el grado hasta ahora.

Agradecer a todos los funcionarios de la Dirección General de los Servicios Ganaderos, en especial a los compañeros y amigos de la Unidad de Epidemiología por la motivación de seguir creciendo profesionalmente.

Agradecimiento a la ANII que financió el proyecto, a INIA, INTA y Universidad de Minnesota por las capacitaciones brindadas que me permitieron volcar el conocimiento adquirido tanto en esta investigación como en el trabajo diario.

Inmenso es el agradecimiento a mi familia, que han estado en las buenas y en las complicadas, confiando y promoviendo el desarrollo tanto en lo profesional como en lo personal. Un agradecimiento al aguante incondicional y su presencia activa en los logros profesionales, además de dos hermosos hijos es para Carolina.

Agradezco a todos los que me motivan para seguir aprendiendo.

RESUMEN

Esta investigación se enmarca en el campo de la sanidad animal y aborda las diferentes estrategias utilizadas en la campaña de control y erradicación de la Brucelosis Bovina en la República Oriental del Uruguay.

Se encuadra en el proyecto de investigación “Evaluación y perfeccionamiento de herramientas para mejorar su eficacia y aplicación de recursos en el combate de la Brucelosis Bovina”, financiado por el Fondos Sectorial de Salud Animal ANII-FSSA_X_2014_1_106078.

En referencia a la metodología se plantea un abordaje cuantitativo, de tipo retrospectivo. Se utilizaron fuentes de datos primarias del MGAP, tomando las bases de datos existentes en el Sistema de Información de Salud Animal (SISA) y del Sistema Nacional de Información Ganadera (SNIG). Se propuso analizar los diferentes componentes de la vigilancia y evaluar su eficiencia para la detección de la enfermedad, como la evaluación de la evolución temporal de los focos de Brucelosis Bovina.

Las conclusiones de esta investigación permitieron reconocer una mayor eficacia cuando se analizan diferentes estrategias territoriales de vigilancia en relación a los focos a la zona de un buffer de cinco km y que el 31% de los linderos a foco caen fuera de la seccional policial, lo que respalda el cambio de criterio de zona de riesgo para el muestreo previo al movimiento.

Al estudiar la distribución espacial se observó una mayor concentración de focos del centro del país hacia el norte, identificando un comportamiento regional diferencial en determinadas áreas. En cuanto al tiempo de saneamiento el 80% de los focos duran menos de dos años y no se aprecian diferencias entre departamentos. En función de la prevalencia inicial se pudo observar una evolución en la detección precoz ya que han ido disminuyendo los focos. Los que reinciden son un 4% de los registrados y no se encuentra una concentración geográfica de estos.

En función del estudio de los componentes del sistema de vigilancia, el componente de habilitación y refrendación de tambos es el que requiere mayor número de muestras para detectar un foco, y el componente más efectivo es la investigación en predios relacionados epidemiológicamente.

Las construcciones alcanzadas permitieron considerar que es posible erradicar la Brucelosis bovina en Uruguay, por medio de la continuidad y avance en las estrategias de vigilancia epidemiológica que se vienen desarrollando y del saneamiento de los focos detectados.

Palabras clave: brucelosis, vigilancia epidemiológica, sistemas de información.

SUMMARY

This research is part of the field of animal health and to address the different strategies used in the control and eradication program of Bovine Brucellosis in Uruguay.

It is part of the research project “Evaluation and improvement of tools to improve their effectiveness and application of resources in the fight against Bovine Brucellosis”, this project was funding by a sectorial source for animal health ANII-FSSA_X_2014_1_106078.

In reference to the methodology, a quantitative approach of a retrospective type is proposed. A primary data source will be used, taking the existing databases in the Animal Health Information System (SISA) and livestock information national system (SNIG) and it is proposed to analyze the different components of the surveillance and evaluate its efficiency for the detection of the disease, such as the evaluation of the temporal evolution of the outbreaks of Bovine Brucellosis.

The conclusions of this research allowed us to recognize greater efficacy when analyzing different territorial surveillance strategies in relation to the outbreaks farms in the area of a five km buffer and 31% of the boundaries focus are outside the police section, which supports the change of criteria of the risk zone for pre-movement sampling.

When studying the spatial distribution, there is a greater concentration of focus from the center of the country towards the north, identifying a differential regional behavior in certain areas. In terms of sanitation time, 80% of the focus last less than two years and there are no differences between departments. Depending on the initial prevalence, showed an evolution in early detection as they have been decreasing. The recurring focus are 4% of the records and a geographical concentration of these is not found.

Depending on the study of the components of the surveillance system, the component of habilitation and endorsement of milking farms is the one that requires the greatest number of samples to detect a focus and the most effective component is research on epidemiologically related farms.

The constructions achieved allowed us to consider that it is possible to eradicate Bovine Brucellosis in Uruguay, through continuity and progress in the epidemiological surveillance strategies presented.

Keywords: brucellosis, epidemiological surveillance, information systems.

Contenido

Capítulo 1. Introducción	1
1.1. Investigaciones Internacionales y Regionales.....	4
1.2. Investigaciones Nacionales	5
1.3. Reglamentación y normativas.....	6
Capítulo 2. Brucelosis bovina	10
2.1. Etiología	10
2.2. Epidemiología de la Brucelosis	11
2.2.1. Fuentes de infección y transmisión	11
2.2.3. Factores de riesgo	12
2.2.4. Distribución geográfica	14
2.3. Patogenia y datos clínicos.....	14
2.4. Diagnóstico	16
2.5. Vacunas.....	17
2.5.1. Vacuna con la cepa 19 de Brucella abortus.....	19
2.5.2. Vacuna con la cepa RB51 de Brucella abortus	19
2.6. Brucelosis bovina como zoonosis	21
Capítulo 3. Definición del problema de investigación	24
y metodología empleada.....	24
3.1. Definición del problema	24
3.2. Objetivos	26
3.2.1. Objetivo general	26
3.2.2. Objetivos específicos.....	26
3.3. Materiales y Métodos.....	26
3.3.1. Evaluación y comparación de diferentes estrategias territoriales de vigilancia en relación a los focos: sección policial u otras áreas de contención o riesgo a partir del foco.....	26
3.3.2. Identificación de conglomerados de focos de brucelosis bovina y descripción de algunos indicadores epidemiológicos.....	27
3.3.3. Evaluación de los componentes de vigilancia más eficientes para la detección de focos de la enfermedad.....	27
Capítulo 4. Resultados y discusión.....	29
4.1. Evaluación y comparación de diferentes estrategias territoriales de vigilancia en relación a los focos: sección policial u otras áreas de contención o riesgo a partir del foco.....	29
4.2. Identificación de conglomerados geográficos de focos de brucelosis bovina y descripción de algunos indicadores epidemiológicos.....	33
4.3. Evaluación de los componentes de vigilancia más eficientes para la detección de focos de la enfermedad	38
Capítulo 5. Consideraciones finales	46
Referencias bibliográficas.....	49

Lista de tablas

Tabla 1. Estimaciones de porcentajes de seroprevalencia aparentes para la BrB en la población del Uruguay, por año según giro.....	3
Tabla 2. Síntesis de las principales leyes y normativas generadas en Uruguay respecta a BrB	7
Tabla 3. Resistencia y supervivencia en el ambiente de la BrB	13
Tabla 4. Características diferenciales entre las cepas bacterianas.....	18
Tabla 5. Vacunas usadas en América para prevenir la BrB (Samartino, 2007)	19
Tabla 6. Mecanismos de transmisión de la infección.....	21
Tabla 7. Situación de la brucelosis en veterinarios en función de la edad en Uruguay .	22
Tabla 8. Distribución de casos humanos confirmados de Brucelosis en Uruguay por año	23
Tabla 9. Predios totales involucrados a partir de todos los 98 focos iniciados en el 2015 según las diferentes estrategias de vigilancia.	29
Tabla 10. Serologías registradas en el SISA y asociadas a los 12 meses siguientes de cada uno de los focos 2015 y sus resultados según las diferentes estrategias de vigilancia	30
Tabla 11. Valores medios, desvío estándar (DE), mínimos, máximos, medianas percentil 75 y percentil 25 de los establecimientos asociados a los 98 focos del 2015 analizados según las estrategias de vigilancia	30
Tabla 12. Sueros y sus resultados y número de focos según estrategia.....	31
Tabla 13. Estimación de costos en serología y de detección de cada foco por estrategia de vigilancia y medidas de eficiencia	31
Tabla 14. Bovinos susceptibles y número de movimientos de salida de los establecimientos implicados en cada foco según las estrategias de áreas de riesgo.....	32
Tabla 15. Prevalencia inicial según estrato y giro	35
Tabla 16. Histórico de focos de brucelosis bovina según giro productivo por categorías de repetición de los focos	36
Tabla 17. Frecuencia relativa porcentual de reincidencia por año	37
Tabla 18. Vigilancia serológica en frigoríficos por año	38
Tabla 19. Resultados de serologías y costos por año	39
Tabla 20. Resultados serológicos y estimación de costos a partir de habilitaciones y refrendaciones de tambos por año	40
Tabla 21. Vigilancia serológica a partir de movimientos de zonas caracterizadas de riesgo por año	41
Tabla 22. Vigilancia con motivo de la investigación oficial de establecimientos rastreados por estar relacionados epidemiológicamente con los focos de BrB.....	42

Lista de figuras

Figura 1. Comportamiento de la Brucelosis dentro del establecimiento (Gil y Piaggio)	12
Figura 2. Distribución geográfica de la Brucelosis (<i>Brucella abortus</i>), 2018 (OIE).	14
Figura 3. Distribución de la brucelosis en Uruguay	15
Figura 4. Distribución de la vacunación con RB51 en Uruguay en el periodo 2015-2018	20
Figura 5. Cadena epidemiológica de la Brucelosis.....	22
Figura 6. Mapa del Uruguay con los cuatro conglomerados “clusters” identificado para la brucelosis bovina. 2019.	33
Figura 7. Antigüedad de los focos en saneamiento y distribución de la duración del saneamiento en los focos que han cerrado.	34
Figura 8. Duración en días del saneamiento de los focos cerrados por departamento ...	35
Figura 9. Distribución de frecuencias relativas de los focos reincidentes en relación a su antigüedad al momento de la reincidencia.	36
Figura 10. Ubicación geográfica de los focos que han reincidentido desde el inicio del programa de control de BrB en este siglo.....	37
Figura 11. Porcentaje anual de establecimientos vigilados que se detectan como nuevos focos de BrB.	43
Figura 12. Evolución temporal del número de serologías anuales para detección de un foco. 2005-2019.....	44
Figura 13. Evolución temporal del número de focos detectados cada 100 mil muestras serológicas en función del componente de vigilancia empleado en los años 2015-2018.	45

Capítulo 1. Introducción

Este estudio se enmarca en el Proyecto de investigación “Evaluación y perfeccionamiento de herramientas para mejorar su eficacia y aplicación de recursos en el combate de la Brucelosis Bovina (BrB)”, financiado por el Fondo Sectorial de Salud Animal (FSSA) de la Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII) y del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIA), código FSSA_X_2014_1_106078.

La BrB se puede definir como una enfermedad infecciosa grave de alta contagiosidad del ganado y otras especies, incluido el hombre, causada por la *Brucella abortus*. Es una zoonosis de gran importancia, que reduce la eficiencia productiva a través del aborto, infertilidad y disminución en la producción de leche, lo que se traduce en importantes pérdidas económicas.

La primera comprobación de *Brucella abortus* en Uruguay fue en el año 1926 realizada por el Dr. Cassamagnaghi y la constatación en humanos por Nin y Silva en 1931 (Gil, A. et al. 2013).

A partir de 1953, se incorpora la vacunación voluntaria contra BrB a las hembras bovinas con vacuna cepa 19. En 1961 se declara obligatoria la lucha contra la BrB en todo el territorio nacional y se establecen una serie de medidas al respecto. En 1996 se suspende la vacunación sistemática de las hembras bovinas con vacuna cepa 19 para iniciarse una nueva etapa en el combate de esta enfermedad. En 1998 se lleva a cabo un plan de erradicación de BrB, con refuerzo de las actividades de vigilancia, eliminación de reactores y saneamiento de los focos. En el año 2002 aparecen varios focos en el departamento de Rocha, donde se toman medidas como la cuarentena (interdicción) de los focos, obligatoriedad de contar con serología negativa para mover animales susceptibles de los predios que estaban en las seccionales policiales correspondientes a los focos y se empieza a usar la vacuna RB51. El principal motivo para utilizar esta vacuna es que no interfiere con el diagnóstico serológico como sí lo hace la cepa 19. En 2003 aparecen nuevos focos en el departamento de San José con aparición de algunos casos de Brucelosis en humanos. En el año 2005 se incorpora la vacunación con RB51 en el departamento de San José y la realización de serología junto con la refrendación anual de los establecimientos lecheros. De 2005 a la fecha se han aplicado estrategias de vigilancia epidemiológica a partir de diferentes acciones para detectar la presencia de la infección en los rodeos: acciones sanitarias (saneamiento); medidas para evitar la difusión de la enfermedad como la interdicción, vacunación y sangrados sucesivos con eliminación de reactores; control de movimientos desde áreas de riesgo que buscan evitar el traslado de animales infectados hacia otras zonas.

Los países que han erradicado la BrB, como ser Estados Unidos (EE. UU.), Nueva Zelanda, Japón, Reino Unido y otros países europeos, contaron con recursos suficientes para aplicar sistemas de vigilancia y detección de la enfermedad en forma genérica a toda la población. Han utilizado la combinación de diferentes estrategias de vigilancia para la detección de focos: serología de toda la población susceptible, serología total de la faena, muestreo mensual en todas las leches de los tanques y serología de todos los

movimientos de animales susceptibles. Estas evidencias muestran que es posible la erradicación de la enfermedad y las autoridades sanitarias del Uruguay consideran que en este momento estarían dadas las condiciones para afrontar nuevas etapas en la campaña de control y erradicación de la BrB.

En nuestro país en base a los esfuerzos de todos los sectores intervinientes en la toma de decisiones de la campaña de BrB y a cambios progresivos en la estrategia de lucha, con la aplicación de diferentes instrumentos en los sistemas de vigilancia, se logró alcanzar y estabilizar una situación epidemiológica de muy baja prevalencia de la enfermedad.

Los métodos actuales de vigilancia serológica son: muestreo de categorías de animales susceptibles en establecimientos de faena, muestreos aleatorios anuales (muestreo panel), serologías previas al movimiento en zonas definidas como de riesgo, refrendación anual de tambos, ELISA en leche tanque, serología en predios linderos a foco y en predios relacionados epidemiológicamente.

En las muestras de sangre de hembras adultas de plantas de faena, si hay un resultado positivo de la prueba diagnóstica confirmatoria se identifica el origen del animal y se rastrea el predio por medio del sistema de identificación individual y trazabilidad del SNIG para realizar la investigación y sanear el establecimiento si se trata de un nuevo foco.

El muestreo panel consiste en un monitoreo basado en un muestreo aleatorio con alcance nacional de 650 establecimientos anuales aproximadamente. Este muestreo es diseñado con diferentes estrategias y se toman 60 muestras por establecimiento de vacas paridas. Se considera un indicador de evolución de la prevalencia en el país y colabora con la vigilancia sin ser su objetivo principal.

El sangrado previo al movimiento consiste en la zonificación de riesgo para la enfermedad. Es una de las decisiones definidas en la estrategia de acción y se exigen serología negativa dentro de los 120 días previos al movimiento del ganado susceptible, excepto cuando el destino es la faena. Se han utilizado diferentes estrategias para determinar las zonas de riesgo en función de los focos activos las que se van actualizando periódicamente. Esta estrategia es una buena herramienta para minimizar la propagación de la infección en zonas de riesgo basadas en los focos conocidos.

La refrendación en tambos se efectúa al ganado vacuno lechero de forma anual con carácter obligatorio e incluye la serología para BrB.

Las pruebas de ELISA en leche tanque para BrB es realizado en forma cuatrimestral en todos los establecimientos lecheros que remiten su producción a las plantas industriales.

La serología en predios linderos a focos y relacionados epidemiológicamente son puntos críticos para determinar el alcance o fuente de la infección cuando se identifica un nuevo foco. Se cuenta con un Sistema de Información Geográfico (SIG) de carácter nacional que junto con los formularios epidemiológicos del SISA permite identificar y evaluar los linderos y los relacionados epidemiológicamente.

A partir de las muestras obtenidas por los diferentes componentes del sistema de vigilancia y del saneamiento, se realizan las pruebas diagnósticas presuntivas, confirmatorias y diagnóstico del agente. La serología tiene como prueba diagnóstica

presuntiva la Rosa de Bengala (RBT) y como confirmatoria alguna de las siguientes pruebas: Rivanol, 2 Mercaptoetanol y Polarización Fluorescente (FPA). El diagnóstico del agente se efectúa a partir del aislamiento y reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

En la aplicación de las RBT participan 127 laboratorios particulares habilitados y registrados ante el MGAP, distribuidos en todo el territorio nacional. Estos laboratorios en conjunto con la vigilancia procesada en la Dirección Nacional de Laboratorios Veterinarios “Miguel C Rubino” (DILAVE) realizan más de 1,5 millones de análisis serológicos al año para BrB.

Las pruebas confirmatorias las realiza únicamente el laboratorio oficial (DILAVE) en cualquiera de sus cuatro sedes en el país: Montevideo, Paysandú, Tacuarembó y Treinta y Tres. Una vez detectado un establecimiento infectado se realiza la interdicción (cuarentena) para evitar la difusión de la enfermedad y el saneamiento con rondas con un intervalo mínimo de cuatro meses de serologías a la totalidad de los animales susceptibles y la eliminación de los reactores. Cuando se logran dos rondas negativas consecutivas el establecimiento recupera el estatus de libre de BrB y se levanta la interdicción.

Según el Anuario Estadístico Agropecuario 2018 (Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca, 2018) en Uruguay existe una población aproximada de 6 millones de bovinos susceptibles, de estos se faenan 1,1 millones anualmente, existen 3.718 tambos bovinos y los movimientos anuales alcanzan 1,3 millones de cabezas solo en la categoría vacas.

Para avanzar en el control/erradicación de la BrB se requiere una evaluación permanente de la estrategia empleada y la actualización constante de los instrumentos utilizados en la campaña sanitaria. El ajuste y evaluación de alternativas determinarán la eficiencia del Programa de combate de la enfermedad.

Tabla 1. Estimaciones de porcentajes de seroprevalencia aparentes para la BrB en la población del Uruguay, por año según giro

Giro	Año											
	2002	2004	2006	2008	2010	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018
Carne	0,24	0,16	0,23	0,30	0,04	0,10	0,06	0,09	0,06	0,03	0,03	0,05*
Leche	0,02	0,42	0,00*	0,01*	0,60	0,03*	0,03*	0,15*	0,04*	0,04*	0,05	0,05

Nota: * Datos basados en resultados de vigilancia debido a que no fue posible estimarlos a través de los muestreos

En la Tabla 1 se puede observar cual ha sido la evolución de la seroprevalencia aparente para la BrB en los diferentes giros de producción a lo largo de estos años, con base en la mayoría de los casos a estimaciones basadas en los muestreos aleatorios oficiales.

Llegar a estos niveles de control, por debajo del 1% de la población, es muy difícil e insume muchos recursos y tiempo aplicando una estricta política sanitaria, como ha venido haciendo el Uruguay desde el siglo pasado en forma constante. Dada las

características de esta enfermedad, si no se persiste en el esfuerzo de controlarla se puede retroceder rápidamente y perder la inversión realizada.

Dado que la prevalencia es tan baja en los muestreos aleatorios no se pudo llegar a estimar la seroprevalencia aparente en alguno año y giro, por lo que se estimó en función de la vigilancia que se realizó en cada año.

1.1. Investigaciones Internacionales y Regionales

En China Zhang y colaboradores (2018) realizan una revisión sistemática de 23 programas de control o erradicación de BrB, concluyendo que se debe tener un sistema de vigilancia complejo y sistemático, integrado y eficiente, basado en la identificación de los animales y los registros de los eventos relevantes. Entienden que la erradicación no es viable en un marco temporal limitado, Australia y Nueva Zelanda demoraron más de 20 años para lograrlo, mientras que estar libres en EE. UU. requirió 64 años y el resto de los países analizados (19 países) llevan varias décadas sin poder erradicarla en forma definitiva.

En Italia Darbon et al. (2018) efectúan un estudio de vulnerabilidad de la BrB con el fin de hacer aportes para su erradicación. Evalúan la vulnerabilidad de la persistencia y determinan como factores más vulnerables los movimientos y la dispersión entre rodeos vecinos.

En Costa Rica Hernández-Mora et al. (2017) detallan cuales fueron las fallas en el control de la enfermedad en un país que ha aumentado la prevalencia. La cobertura de vacunación por debajo del umbral deseado en el programa de control tiene una amplia distribución espacial y mencionan las interrupciones económicas, los servicios de salud animal insuficientes y sin soporte político como las principales fallas.

En Ecuador Zambrano et al. (2016) evalúan la aplicación del programa de control de BrB en la provincia de Manabi y comprueban un bajo cumplimiento de las propuestas del programa nacional de control, que es de carácter voluntario.

En Brasil Borba et al. (2013) miden la prevalencia de BrB y elaboran un mapa de riesgo en el estado de Maranhao. Determinan que la presencia de humedales y la aglomeración de animales en pasturas son factores de riesgo y consideran que en el centro de esa región deben fortalecer la vacunación por la alta prevalencia y realizar más investigaciones con el fin de ver otros factores de riesgo no considerados.

De las investigaciones precedentes en el tema a nivel internacional y regional, observamos la actualidad y necesidad de investigar los sistemas de control y vigilancia de la BrB en busca de su erradicación, lo cual requiere tiempo y recursos suficientes. El sistema de vigilancia debe ser sistemático, integrado y contemplar diferentes aspectos en busca del objetivo de detectar nichos y eliminar la enfermedad del territorio bajo campaña. Identificamos como puntos claves la bioseguridad de los establecimientos, control de los movimientos desde áreas de riesgo y vigilancia de los linderos, o con alguna relación epidemiológica a focos activos y el compromiso de todas las partes involucradas en la vigilancia para prevenir la dispersión de la enfermedad en una región.

1.2. Investigaciones Nacionales

A nivel nacional las investigaciones más relacionadas a la temática específica de este estudio fueron realizadas por la Facultad de Veterinaria (Fvet) y el MGAP, con gran apoyo del Instituto de Investigación Agropecuaria (INIA). A continuación se desglosan las mismas.

Por una parte, Gil y Piaggio (2013) a través del Fondo de Promoción de Tecnología Agropecuaria (FPTA) con el fin de controlar y erradicar la BrB evalúan instrumentos de vigilancia epidemiológica y el desarrollo de herramientas para la toma de decisiones. La investigación muestra una alta repetibilidad de las pruebas de ELISA en leche, con un mejor comportamiento que la prueba en uso en ese momento que era la de anillo en leche (PAL). Entienden que el uso de modelos de simulación ayuda a la toma de decisiones y permite conocer aspectos epidemiológicos de la BrB en Uruguay.

Por otra parte, Ragan y Ragan (2012) efectúan una revisión del programa de BrB donde encuentran como fortaleza el contar con este para la erradicación de la BrB en Uruguay siendo un progreso sustancial en el control de la enfermedad en el ganado. Sin embargo, señalan la permanencia de BrB en áreas entendidas como de difícil control que mantienen una relativa alta prevalencia. Generan una serie de recomendaciones como la necesidad de proporcionar control de calidad y supervisión de los laboratorios habilitados; bajar los retrasos en la eliminación de los animales infectados y vigilancia de predios relacionados epidemiológicamente; realizar planes sanitarios para cada foco; tener la autoridad legal necesaria, uniformidad de los requisitos del programa entre otras; contar con un equipo de epidemiólogos a nivel central y regional o departamental.

Rodríguez, Garín, Lagarmilla, Hernández y Facal (2011) evalúan los costos del programa de BrB y cuantifican los costos del sector público y privado, donde encuentran dificultad en el análisis de la información dado que determinados datos no estaban completos y sistematizados. Se evidencia la coparticipación público-privada, donde el sector público financia el 57% de las actividades y el sector privado el 43%.

Gil, Silva, Garin, Caponi, Chans y Vitale (2003) efectúan un estudio transversal de la BrB en Uruguay donde se muestrean 6.355 vacas de 119 establecimientos lecheros y 12.622 vacas de 246 predios ganaderos. Determinan una prevalencia aparente en hembras bovinas de 0,02% en lechería y 0,24% en ganadería. A nivel predial la prevalencia se estimó en 0,25% en predios lecheros y 2,04% en predios ganaderos.

Las investigaciones citadas precedentemente nos muestran cómo en Uruguay existe una preocupación mantenida por erradicar la BrB, generando construcción de conocimiento que brinde evidencias para abordar la problemática identificada. Los resultados existentes entendemos que han colaborado en la toma de decisiones para generar la campaña sanitaria, así como el conocimiento en cuanto al comportamiento de la BrB en Uruguay y poder evaluar las medidas que estratégica y económicamente sean más eficientes. Ejemplo de esto es lo realizado por Gil y Piaggio en el año 2013 donde verifican un mejor comportamiento de ELISA en leche que PAL y en año 2014 se implementa el cambio de estrategia teniendo en cuenta estas recomendaciones.

El MGAP tiene un marco jurídico claro en cuanto a las campañas sanitarias, las cuales deberían ser evaluadas periódicamente, así como se correspondería evaluar cada estrategia que compone cada campaña. Con el programa actual de BrB se busca un control avanzado de la enfermedad teniendo como meta su erradicación. Esto se viene realizando en el caso de la BrB y generando varios cambios en la vigilancia en el correr de los años. Hoy se está frente a una situación de muy baja prevalencia, lo que lleva a que sea cada vez más difícil encontrar un foco. Se vigila aproximadamente un 26% de los predios del país en base a riesgo, pero existirían zonas donde no se tiene certeza de la ausencia de la enfermedad por no haber vigilancia que lo corrobore. Esto genera una necesaria y frecuente revisión de las estrategias actuales de la campaña y que se estudie la eficiencia y eficacia de cada componente de la vigilancia. La existencia de registros y la evaluación de indicadores ayudan a la racionalidad en la toma de decisiones. Si bien estamos trabajando con una zoonosis, lo cual justifica las acciones más allá de las consideraciones económicas, igualmente es relevante el análisis costo/beneficio del Programa.

1.3. Reglamentación y normativas

A nivel internacional existen normativas establecidas en el código Sanitario para los Animales Terrestres de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) que brinda normas destinadas a mejorar la sanidad, el bienestar animal y la salud pública veterinaria en todo el mundo. Tiene textos normativos para garantizar un comercio internacional seguro de animales y subproductos. Las autoridades veterinarias deben notificar y referirse a las medidas sanitarias que en él figuran y prevenir su propagación a través de los intercambios internacionales de animales y subproductos impidiendo al mismo tiempo barreras sanitarias injustificadas. Estas normas se adoptan por la Asamblea Mundial de Delegados que constituye la instancia más alta de la OIE. El capítulo 8.4. tiene como objetivo mitigar el riesgo de propagación de la Brucelosis en los animales, así como el peligro que estos agentes tienen para la salud humana.

Las normas para las pruebas de diagnóstico y las vacunas se describen en el Manual Terrestre.

Es muy amplia la reglamentación y normativa existente en relación al control de la BrB en Uruguay. Esto demuestra la relevancia dada en el país a la atención de su control.

A modo de síntesis en la tabla 2 se resumen las normativas aplicables en el control de la brucelosis bovina.

Tabla 2. Síntesis de las principales leyes y normativas generadas en Uruguay respecta a BrB

Normativa	Síntesis de contenido
(Uruguay, Ley N° 3606 13 de abril de 1910)	“Ley de policía sanitaria animal” Establece el contralor y defensa de los ganados por el poder ejecutivo contra enfermedades contagiosas.
Decreto 24 de marzo de 1953	Se incorpora la vacunación a las hembras bovinas con cepa 19 de forma voluntaria.
(Uruguay, Ley N° 12.937, 1961)	Declara la lucha obligatoria contra la BrB en todo el territorio estableciendo medidas.
Decretos 79/894 del 22 de febrero de 1984 y 607/985 del 6 de noviembre de 1985	Normas referidas a la eliminación de animales infectados. La vacunación de terneras entre los cuatro y ocho meses de edad y determina las pruebas diagnósticas aplicables.
(Uruguay, Ley N° 16.462, 1994)	Establece que las plantas de faena sujetas a inspección veterinaria oficial deberán recibir y faenar los animales que se les envíen en cumplimiento de medidas sanitarias, por la autoridad competente.
Decreto 552/996 del 30 de diciembre de 1996	Se suspende la vacunación sistemática de hembras bovinas con la vacuna cepa 19.
Decreto 432/002 del 6 de noviembre de 2002	Se autoriza la importación y la aplicación de la vacuna bovina con cepa RB51.
(Uruguay, Ley N° 17.730, 2003)	Se crea y regula el Seguro para el Control de la BrB (SCB).
Decreto 135/005 del 11 de abril de 2005	Se dispone la vacunación y revacunación obligatoria contra la BrB, de todos los bovinos hembras mayores de cuatro meses de edad no preñadas, con la vacuna Brucella Abortus RB51, en todos los predios del departamento de San José y en aquellas zonas relacionadas epidemiológicamente.
Resolución N° 45/005 del 19 de mayo de 2005	Establece que la habilitación y refrendación de los tambos deberán presentar una serología negativa de BrB de todos los bovinos (machos y hembras con destino a la reproducción ya sea bovinos de leche o de carne) mayores de un año.
Resolución N° 72/005 del 19 de julio de 2005	Se establecen los procedimientos, requisitos y condiciones para el control sanitario de ingreso y egreso de animales a los campos de cría.
Resolución 41/006 del 15 de mayo 2006	Se modifica la nómina de plantas de faena para el sacrificio de los bovinos positivo a BrB establecida por la Resolución DGSG/RD N° 41/006 de 15 de mayo de 2006
Resolución N° 86/006 del 9 de noviembre de 2006	A partir del 1° de enero de 2007, para la habilitación y refrendación de tambos ubicados en zonas donde se ha detectado BrB, se exigirá, conjuntamente con la documentación correspondiente, la certificación de vacunación y revacunación de los animales bovinos hembras mayores de cuatro meses no preñadas, del año inmediato anterior.
Decreto N° 100/008 del 18 de febrero de 2008	La DGSG a través de la Dirección de Sanidad Animal (DSA) determinará en base a criterios epidemiológicos zonas de riesgo en relación a la BrB.
Resolución N° 25/008 del 10 de abril de 2008	Se dispone la acreditación de veterinarios de libre ejercicio en el marco del programa de control y erradicación de BrB.

Resolución N° 41/008 del 3 de junio de 2008	La DGSG determina las zonas de riesgo, basada en criterios epidemiológicos en relación a la BrB. (Incluye definición de “foco”, que fue sustituida por la resolución DGSG N° 175/2015 de 13 de agosto de 2015).
Resolución N° 95/009 del 1 de junio de 2009	Se aprueba el Manual de Procedimiento para la Eliminación de Animales Reaccionantes Positivos a BrB.
Resolución N° 20/010 del 19 de enero de 2009	Se autoriza la vacunación y revacunación de carácter voluntaria con la vacuna RB 51 en las zonas no categorizadas como de riesgo a la BrB.
Resolución N° 828/010 del 14 de octubre de 2010	Dispone la vacunación obligatoria contra la BrB en predios linderos y relacionados epidemiológicamente.
Ley N° 18.719 del 27 de diciembre de 2010, artículo 378	Faculta al MGAP a destinar recursos del Fondo Permanente de Indemnización creado por el artículo 14 de la ley N° 16.082 de 18 de octubre de 1989, para indemnizar la pérdida de animales por sacrificio sanitario y destrucción total, dispuesta por la autoridad competente, para el control y erradicación de zoonosis y otras enfermedades de importancia económica para el país. Incluye sacrificio de animales positivos a BrB en el campo.
Resolución N° 25/011 del 17 de febrero de 2011	Actualización de Manual de Procedimiento de Vacunación RB51.
Resolución N° 96/012 del 25 de junio de 2012	A partir del 1° de enero de 2013 los veterinarios de libre ejercicio que participen en las actividades relativas al área de campo, en el marco del Programa de Erradicación de la BrB, deberán estar acreditados ante la DGSG.
Resolución N° 186/012 del 30 de octubre de 2012	A partir del 1° de enero de 2013 los veterinarios de libre ejercicio que participen en las actividades relativas al área de laboratorio para el diagnóstico primario de BrB, deberán estar acreditados ante la DGSG.
Resolución N° 190/012 del 12 de noviembre de 2012	Se aprueba el Manual de Procedimiento para la habilitación y funcionamiento de los laboratorios para el diagnóstico de BrB.
Decreto 441/012 de 26 de diciembre de 2012	Sustituye art. N° 1 decreto N° 79/984 de 22 de febrero de 1984. Deroga el decreto N° 20/998 de 1998. Actualiza y adecua las pruebas presuntivas y confirmatorias de detección de la BrB. Establece medidas sanitarias para el control de la BrB.
Resolución N° 58/014 del 17 de marzo de 2014	Determina que se realice la prueba de ELISA en leche de tanque con una frecuencia trimestral en predios remitentes a plantas lácteas para habilitación y refrendación de tambos. Se aprueba el uso de FPA como prueba confirmatoria.
Resolución N° 120/014 del 29 de julio de 2014	Se aprueba el Manual de Procedimiento para la habilitación y funcionamiento de los laboratorios para diagnóstico de BrB.
Ley N° 19.300 del 26 de diciembre de 2014	Defina la indemnización por sacrificio de animales positivos a BrB (en faena o en el campo); subsidio para saneamiento de foco y apoyo económico para linderos de foco.
Resolución N° 599/015 del 24 de julio de 2015	Los productores que opten por aplicar la vacuna RB51 en forma voluntaria en zonas no categorizadas como de riesgo a la BrB, no están obligados a realizar una serología previa a los movimientos de animales susceptibles a la enfermedad.
Resolución N° 175/015 del 13 de agosto de 2015	Aprueba la actualización de los Manuales de Procedimiento de: Atención de Foco; Vacunación y Extracción de zonas de riesgo.

	Cambia la definición de “foco”.
Decreto 148/017 del 5 de junio de 2017	Adecuación de la estrategia del programa de erradicación de la BrB en el territorio nacional. Cambia el criterio de zona de riesgo para la vigilancia previo al movimiento, pasa a ser los linderos y tras linderos a foco

Las leyes, normas y reglamentos actuales requieren seguimiento sobre su aplicación y resultado en la campaña, así como su revisión si no son adecuados o fallan en su aplicación.

Capítulo 2. Brucelosis bovina

En este capítulo desarrollamos el marco en el cual nos basamos, enfocado en las características de la BrB. Para ello consideramos pertinente abordar diferentes aspectos que definen o caracterizan la enfermedad.

2.1. Etiología

El género *Brucella* está clasificado dentro de la familia Brucellaceae y el orden Rhizobiales. Por muchos años se conocían seis especies, siendo estas: *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*, *B. ovis*, *B. canis*, *B. neotomae*, diferenciadas en base a su preferencia de hospedero y a un conjunto de características antigénicas y metabólicas. Las tres especies de mayor importancia económica y sanitaria son *B. abortus* (bovinos), *B. melitensis* (ovinos y caprinos) y *B. suis* (suinos) las que a su vez se subdividen en biovars o biotipos en base a características serológicas y metabólicas. A partir de la década de 1990 se aislaron cepas de *Brucella* de nuevos hospederos como mamíferos marinos y roedores.

Brucella spp. es un bacilo corto Gram negativo, pequeño, inmóvil y aerobio estricto, de crecimiento lento, que no posee cápsulas, ni flagelos, ni fimbrias, no forma esporas y es intracelular facultativo, es decir, se puede multiplicar tanto en el interior como fuera de las células (OIE, 2004). A diferencia de muchas otras bacterias, su genoma está constituido por dos cromosomas circulares y carece de plásmidos. Tienen un metabolismo oxidativo basado en la utilización de nitratos como aceptores de electrones. Son catalasa y oxidasa positivos (excepto *B. neotomae* y *B. ovis*), no atacan la gelatina, ni modifican la leche y en general no fermentan los azúcares; son bacilos muy exigentes, creciendo mejor en medios aerobios enriquecidos con CO₂.

La infección por *Brucella* en ganado bovino suele estar causada por biovariedades de *Brucella abortus*, que es un parásito intracelular con predilección por el sistema retículo endotelial y los órganos de la reproducción.

En algunos países, sobre todo del sur de Europa, África y Asia occidental, en los que el ganado bovino se cría en estrecha relación con ganado ovino o caprino, la infección también puede deberse a *B. melitensis* (Verger, 1985). En ocasiones, *B. suis* puede causar una infección crónica de la glándula mamaria del ganado bovino, pero no se ha observado que cause aborto ni que se transmita a otros animales.

2.2. Epidemiología de la Brucelosis

Para poder dar un buen seguimiento al programa de control y erradicación se debe conocer bien la enfermedad, características del agente, del huésped y medio ambiente. Con esto se podrían detectar los factores de riesgo que determinan la distribución y mantenimiento de la misma en el país.

2.2.1. Fuentes de infección y transmisión

La fuente primaria de infección está representada por las hembras grávidas que, al abortar o parir, expulsan grandes cantidades de Brucellas con el feto, el líquido amniótico y las membranas fetales. Por lo que las pasturas y/o el agua o suelos quedan contaminados por descargas vaginales luego del aborto o el parto. La excreción de Brucella con la leche se puede dar durante todo el año, pero con mucha más importancia después el parto y puede estar ausente en el pico de lactación. También pueden difundir la enfermedad las hembras que, poco después de abortar, eliminan el agente con la secreción vaginal, y vacas que, al parecer sanas, segregan leche que contienen la bacteria. En menor grado pueden contribuir a la contaminación del campo las materias fecales de terneros que se alimentan de leche contaminada, ya que no todas las Brucella se destruyen en el tracto digestivo. Los toros sin infección no la contraen por cubrir a vacas infectadas, pero sí la tienen, pueden infectar a estas a través de la inseminación artificial.

La vía de transmisión más importante es el tracto gastrointestinal por ingestión de pastos, forrajes y aguas contaminadas. Las vacas generalmente lamen membranas fetales, fetos y terneros recién nacidos, los que contienen gran número de Brucella. El instinto de las vacas de lamer los órganos genitales de otras vacas contribuye también a la transmisión de la infección.

La vía intrauterina de vacas infectadas e inseminación artificial con semen contaminado es un gran agente de transmisión de la infección. Otras vías son la inhalación (aerógena), conjuntival o cutánea.

La transmisión congénita de la madre al feto ocurre en una tasa baja difícil de predecir y la infección evoluciona en forma latente hasta la primera gestación de la vaquilla. Un ternero recién nacido de una hembra infectada puede, ocasionalmente, infectarse congénitamente antes del nacimiento y luego de ingerir el calostro contaminado su tracto digestivo contendrá brucelas las cuales serán eliminadas en el meconio y heces fecales al medio externo. Por lo tanto, los recién nacidos de madres infectadas durante su primer mes de vida constituyen un peligro como diseminadores temporales de brucelas si conviven con otros animales susceptibles o son transferidos a rodeos libres de infección. Los animales jóvenes que han ingerido calostro de madres infectadas pueden inicialmente ser sero-positivos, pero luego se convertirán en sero-negativos. En general el animal joven elimina la infección durante el primer mes de vida siempre que no continúe ingiriendo leche contaminada y se evite su exposición a otros materiales contaminados con brucelas.

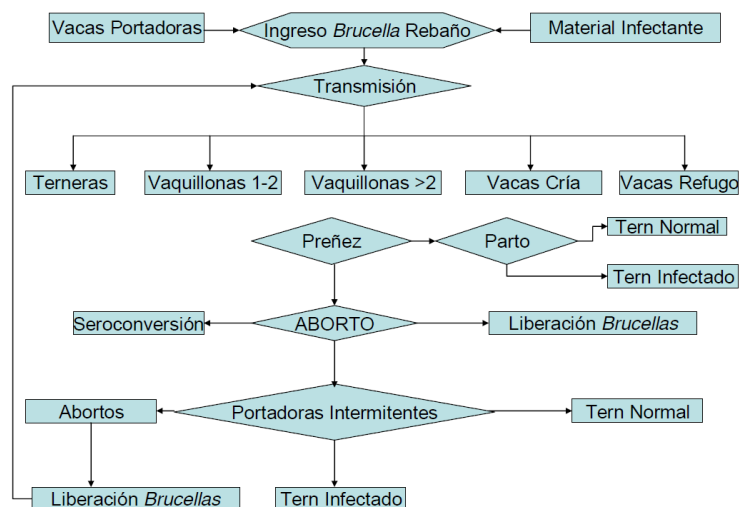


Figura 1. Comportamiento de la Brucelosis dentro del establecimiento (Gil y Piaggio)

En la figura 1 se puede observar el ciclo que se produce dentro de un establecimiento luego del ingreso de la Brucella.

2.2.3. Factores de riesgo

Para optimizar la sensibilidad del sistema de vigilancia y teniendo en cuenta los altos costos, este debe basarse en la identificación de los riesgos asociados a la presencia y diseminación de esta enfermedad.

Varios factores determinan el tiempo que un animal individualmente puede de manera silenciosa tener la infección antes de ser diagnosticada. La dificultad de poder predecir el periodo de incubación y de descubrir un animal que está incubando la enfermedad favorece su diseminación en el rodeo. Ninguna prueba serológica es capaz de detectar el 100% de los animales infectados en una única intervención. Es así que se requiere la sistemática realización de las pruebas de saneamiento, con el criterio de tratar el rodeo como una unidad epidemiológica. El periodo de incubación es muy variable y puede ser tan breve como diez días y tan extenso como 280 días. Con mayor frecuencia la aparición de anticuerpos serológicamente diagnosticables se presenta entre tres a doce semanas de la infección (Casas Olascoaga, 2008).

Los animales infectados no siempre muestran signos clínicos o se manifiestan en determinadas etapas de sus vidas como ciertas fases del estado de gestación, habiendo animales que desarrollan infección subclínica. Durante el periodo de incubación un animal puede excretar y diseminar las brucelas, pero es inseguro hacer el diagnóstico con una única intervención. Los síntomas clínicos y la presencia de una reacción positiva no siempre se presentan al mismo tiempo. En una hembra en fase subclínica la aparición de la reacción positiva en la prueba serológica dependerá del periodo de

incubación, dosis infectante, estado inmunitario, madurez sexual o la fase de la gestación. Una hembra infectada puede abortar antes de dar reacción positiva, pero con mayor frecuencia la reacción positiva se presenta antes de que aborte. Una hembra preñada puede ser negativa o de título bajo de anticuerpos en la prueba serológica efectuada dentro de las dos semanas siguientes al aborto o a la parición normal o anormal de un ternero. Una prueba negativa efectuada dentro de ese periodo no da garantía que el animal no está infectado.

El riesgo de infección aumenta por la incorporación de hembras adultas de cría que es la categoría más importante en la transmisión y diseminación de la infección, con desconocimiento de la situación epizootológica, así como por la densidad de los animales en un rebaño (Aldiri et al. 1992). Los movimientos son un factor muy importante en la diseminación de esta enfermedad y en Uruguay se desplazan más de un millón de hembras anualmente, generando una red de movimientos muy amplia en todo el país, pasando por lugares de concentración de ganado como ser las ferias ganaderas. Por este motivo la implementación de medidas de bioseguridad para reducir el nivel de riesgo debe realizarse cuando se introducen nuevos animales a un rodeo libre, ya sea por un diagnóstico negativo, conociendo el estatus sanitario del predio de origen o muestrear antes de exponerlos al resto de los animales. Estas son medidas que ayudan al programa. El factor geográfico es otro punto a tener en cuenta ya que la bacteria sobrevive más tiempo en determinadas condiciones. (Castro, H., González, S. y Prat, M., 2005).

Tabla 3. Resistencia y supervivencia en el ambiente de la BrB

Material	Tiempo de supervivencia
Suelo y estiércol	80 días
Polvo	15-40 días
Leche a temperatura ambiente	2-4 días
Fluidos y secreciones	10-30 minutos
Agua a 37°C y pH 7,5	Menos de 1 día
Agua a 8°C y pH 6,5	Más de 57 días
Paja	29 días
Fetos abortados	6-8 meses
Heces bovinas	1-100 días
Tierra humedad	66 días
Tierra seca	4 días

Fuente: Acta Bioquim Clin Latinom 2005; 39(2): 203-16.

Tanto los predios relacionados epidemiológicamente a los focos como la zona perifocal son lugares estratégicos para verificar el grado de dispersión de la enfermedad. La prevalencia inicial de cada foco, también nos puede orientar del tiempo que transcurre entre la infección y la detección del mismo.

Cuanto más baja es la prevalencia más compleja es detectar correctamente los animales enfermos. Una parte sustancial del éxito de la campaña de BrB lo constituyen las buenas prácticas de toma e identificación de muestras, el envío al laboratorio en condiciones óptimas, el buen registro en el sistema de información de los animales muestreados y

del predio por parte de los veterinarios acreditados. A su vez es significativo el correcto procesamiento de las muestras y en caso de resultados positivos, el envío adecuado de dicha muestra desde el laboratorio habilitado al laboratorio oficial. La red de laboratorios que realizan la prueba de RBT debe tener uniformidad en los resultados teniendo una buena sensibilidad para la detección de los animales infectados.

2.2.4. Distribución geográfica

La infección por *Brucella* en ganado bovino se transmite a nivel mundial, pero varios países del norte y centro de Europa, así como Canadá, Japón, Australia y Nueva Zelanda se consideran libres tanto de *B. abortus* como de *B. melitensis*.

Los mayores niveles de incidencia se sitúan en Oriente Medio, la región Mediterránea, África subsahariana China, India, Perú y México y el crecimiento más agudo en número de casos se está registrando en países de Asia central y sudoriental. (OIE, 2018).

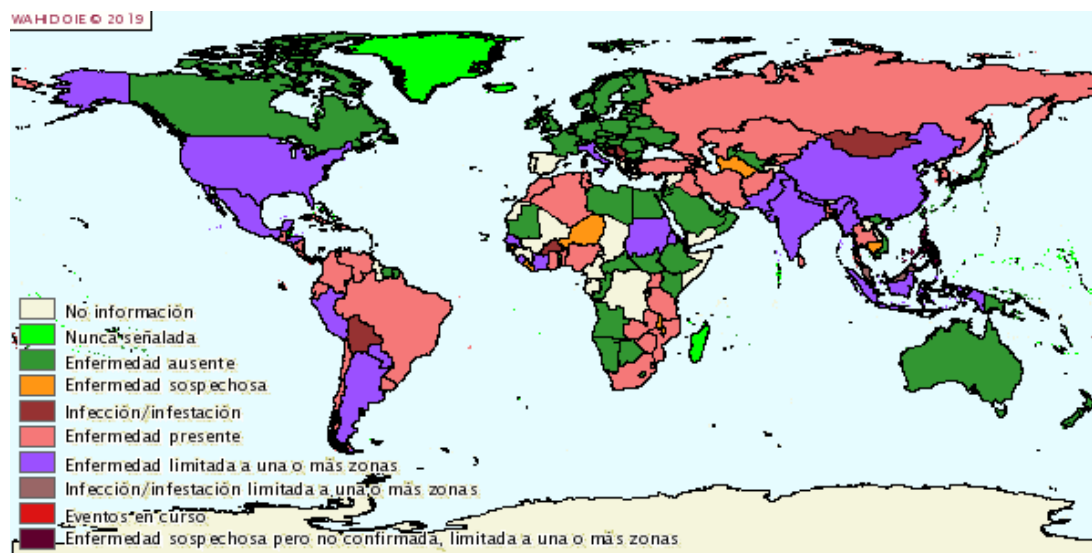


Figura 2. Distribución geográfica de la Brucelosis (*Brucella abortus*), 2018 (OIE).

2.3. Patogenia y datos clínicos

Las especies de *Brucella* son patógenas intracelulares facultativas, propiedad que las mantiene protegidas de la acción de los antibióticos, y de los mecanismos efectores dependientes de anticuerpos; esto justifica la naturaleza crónica de la infección ya que son capaces de adherirse, penetrar y multiplicarse en una gran variedad de células eucariotas tanto fagocíticas como no fagocíticas. Cuando estas bacterias ingresan al organismo pueden ser fagocitadas por los polimorfonucleares (PMN) y macrófagos como parte de la inmunidad innata. Si no son eliminadas llegan por vía linfática a los ganglios regionales correspondientes pudiendo desde allí invadir el torrente sanguíneo. En el torrente sanguíneo son fagocitadas por los PMN y macrófagos circulantes y transportadas, de esta manera, a los diversos órganos donde pueden sobrevivir y multiplicarse dentro de las vacuolas de los fagocitos circulantes y tisulares. Los mecanismos de ingreso de la bacteria a estas células no están suficientemente aclarados,

aunque se presume que el lipopolisacárido (LPS) y las proteínas de la membrana externa podrían participar en los mismos, mediante receptores tipo manosa o integrinas respectivamente. (Castro, H., González, S. y Prat, M., 2005).

FOCOS DE BRUCELOSIS BOVINA DEL 2015 AL 2018

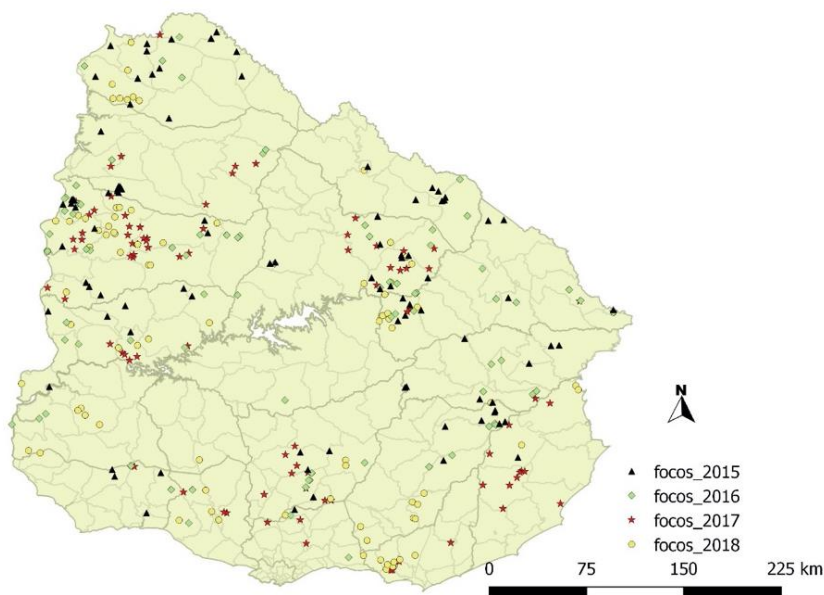


Figura 3. Distribución de la brucelosis en Uruguay

Brucella abortus tiene predilección por el útero gestante, la ubre, los testículos y las glándulas sexuales accesorias masculinas, los ganglios linfáticos, y la capsula y bolsa articular.

Clínicamente es una enfermedad muy difícil de diagnosticar en los bovinos, se caracteriza por abortos, retención de placenta, partos prematuros, terneros recién nacidos débiles, esterilidad e infertilidad temporal o permanente, mastitis con disminución de la lactación e inflamación de los ganglios linfáticos mamarios. En el toro produce orquitis, epididimitis y lesiones en glándulas genitales accesorias. Ocasionalmente produce artritis, bursitis y en casos crónicos, higromas. Todo esto permite sospechar la enfermedad, pero no asegurarlo dada la multiplicidad de agentes bacterianos, víricos, parasitarios o tóxicos que pueden causar cuadros similares.

Esta enfermedad suele ser asintomática en animales de corta edad y en hembras no gestantes. Los hallazgos clínicos dependen del estado inmunitario del rebaño y tras la infección por *Brucella abortus*, las hembras adultas gestantes presentan placentitis, que suele dar lugar a aborto entre el quinto y el noveno mes de gestación.

En las gestaciones siguientes el feto suele llegar a término, aunque una misma vaca puede presentar un segundo y hasta un tercer aborto. Incluso en ausencia de aborto, en la placenta, los líquidos fetales y las secreciones vaginales se produce una profusa excreción del microorganismo. La glándula mamaria y los ganglios linfáticos relacionados también pueden resultar infectados y es posible que se excreten microorganismos con la leche. Aunque en las gestaciones siguientes suelen llegar a

término, la infección uterina y mamaria reaparece, con cantidades bajas de microorganismos tanto en los productos del parto como en la leche. En las infecciones agudas el microorganismo se encuentra presente en la mayoría de ganglios linfáticos principales del organismo. La BrB puede ser una causa de infertilidad en ambos sexos. (OIE, 2019).

Las secuelas más comunes a los abortos son retención de la placenta y metritis. En un rebaño susceptible, la infección puede extenderse rápidamente y provocar un brote de abortos. Este brote puede durar un año o más, al final del cual la mayoría de las vacas susceptibles estarán infectadas y habrán abortado y en gestaciones posteriores llevarán sus fetos a término. Para ese momento, es de esperar que las retenciones de placenta y las metritis sean frecuentes. A medida que se reduce la tasa de abortos, estos se limitan a vacas primíparas y a adquisiciones recientes, ya que el resto de los animales del rebaño adquiere inmunidad parcial. (Blood, D. Radostits O., 1992).

2.4. Diagnóstico

Clínicamente la BrB es muy difícil de diagnosticar, la constatación de algunas manifestaciones clínicas, lesiones anatomopatológicas macroscópicas y la investigación epidemiológica puede orientar, pero se hace necesario recurrir al laboratorio.

El resultado positivo de un animal tampoco asegura que un rodeo este infectado ya que puede ser un falso positivo. Por esta razón es necesario realizar una adecuada investigación epidemiológica considerando varios indicadores como ser movimientos, antecedentes de serologías, vacunaciones previas, ubicación del rodeo, características productivas e indicadores reproductivos para poder arribar a un diagnóstico definitivo.

A nivel de laboratorio se pueden utilizar métodos indirectos de diagnóstico que son los de uso masivo por la accesibilidad y simpleza, pero también están los métodos directos que son más certeros.

Las pruebas serológicas normalizadas y efectuadas con reactivos padronizados constituyen un elemento clave en los programas sanitarios y en la vigilancia epidemiológica (Casas Olascoaga 1976). Las mismas pueden ser clasificadas como: presuntivas, confirmatorias y de vigilancia epidemiológica. Como pruebas de screening o presuntivas las más utilizadas en el mundo son la prueba de Rosa de Bengala (Antígeno tamponado a pH 3.65 con contenido celular del 8%) y la prueba de antígeno bufferado de aglutinación en placa BAPA (Antígeno tamponado a pH 3.80 con contenido celular 10 a 12%). Estas dos pruebas logran la inhibición de la actividad aglutinante de las IgM por el pH de 4 en que ocurre la reacción, en tanto las IgG reaccionan satisfactoriamente a ese pH. Las dos son pruebas sencillas, rápidas y económicas.

Como confirmatorias, pueden utilizarse las pruebas de: Rivanol, 2 Mercapto-etanol (2ME), fijación del complemento y FPA que tienen alta sensibilidad y especificidad. Estas pruebas están indicadas para procesar los sueros positivos a las técnicas presuntivas y disminuir así los resultados falsos positivos, que ocurren mayoritariamente en regiones de baja prevalencia o donde se practica la vacunación

sistemática (Casas Olascoaga, 1976). Es de destacar que las técnicas de enzimo inmunoensayo (ELISA) son exitosas herramientas para utilizar en programas de control ya que presentan excelente sensibilidad y especificidad (Nielsen et al. 1992). El DILAVE ha participado en estudios de validación de estas (Silva Paravis y col 1998) las que han demostrado ser útiles como técnicas tanto tamiz como confirmatorias. Tienen como ventaja la sistematización y objetividad dado que la lectura se realiza por medio de espectrofotómetro y computadora, pudiéndose procesar gran cantidad de muestras a la vez. (Repiso et al., 2005).

En Uruguay se utilizan en serie RBT como screening y FPA como confirmatoria; con esta estrategia se disminuye la cantidad de falsos positivos que ocurre cuando hay baja prevalencia.

A nivel de rodeos lecheros se ha utilizado sobre muestras de leche extraídas de los tanques la Prueba de Anillo en Leche (PAL) hasta el año 2014 y a partir de ese año la prueba de ELISA, si da positivo lleva a la realización de una serología en el establecimiento correspondiente.

El diagnóstico del agente se efectúa a partir del aislamiento y reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Como dijimos precedentemente cuanto más baja es la prevalencia más difícil es detectar correctamente los animales enfermos, teniendo en cuenta:

$$VP = p \times Se$$

$$FP = (1 - p) \times (1 - Sp)$$

VP = verdaderos Positivos

p = prevalencia

Se = sensibilidad de la prueba diagnóstica

FP = Falsos Positivos

Sp = Especificidad de la prueba diagnóstica

Teniendo en cuenta que en Uruguay hay una baja prevalencia (p) de BrB y gran cobertura de laboratorios es de esperar que muchos no reciban sueros de animales infectados y por tanto exista cierta probabilidad de algún falso positivo en función del número de sueros procesados y las características del RBT.

2.5. Vacunas

La vacunación contra la BrB es una herramienta de comprobada eficiencia cuando es utilizada en el marco de Programa de control de la enfermedad. Tiene como objetivo establecer inmunidad en el animal y ayudar a proteger al rodeo bovino contra el aborto. De este modo se disminuye la susceptibilidad a la infección.

La BrB es una de las infecciones de laboratorio más fáciles de contraer y exige la aplicación de estrictas medidas de seguridad. La manipulación en los laboratorios de cultivos vivos de *Brucella*, incluidas las cepas vacunales, es peligrosa y debe realizarse a un nivel de contención y bioseguridad adecuado, que se puede determinar a partir de un análisis del riesgo biológico.

Tabla 4. Características diferenciales entre las cepas bacterianas

S19	RB51
Cepa lisa	Cepa rugosa
Genera anticuerpos que interfieren en las pruebas diagnósticas impidiendo diferenciar entre un animal vacunado y otro enfermo	Los anticuerpos que genera no interfieren en las pruebas diagnósticas
Administrada en vacas en gestación puede provocar abortos	Muy baja probabilidad de provocar abortos

Las dos vacunas mundialmente más utilizadas contra la BrB son la cepa 19 y la RB51, siendo la primera la más difundida hoy en día y es la vacuna de referencia con la que se compara el resto de las vacunas.

En EE. UU. se ha sustituido gradualmente la cepa 19 por la RB51 que actualmente es la vacuna oficial. (USDA, 2017).

Varios países de la región utilizan las dos cepas con diferentes estrategias de aplicación, como ser en Colombia el programa tiene establecida la vacunación obligatoria de terneras entre tres y ocho meses de edad con cualquiera de las dos cepas, en el caso que el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) autorice la vacunación en hembras mayores de ocho meses está prohibida la utilización de la cepa 19. En predios con BrB se utiliza la RB51 en hembras no gestantes. (ICA, 2019).

En Argentina el Servicio de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA), en su marco regulatorio establece la obligación de vacunar las terneras del país excepto en Tierra del Fuego, Antártida e islas del atlántico sur de entre tres y ocho meses de edad con cepa 19. (SENASA, 2019).

Tabla 5. Vacunas usadas en América para prevenir la BrB (Samartino, 2007)

País	Cepa 19 (%)	RB 51 (%)
EE. UU.	0	100
México	10	90
Costa Rica	0	100
Colombia	70	30
Ecuador	60	40
Perú	70	30
Brasil	100	0
Chile	0	100
Argentina	100	0
Paraguay	60	40

2.5.1. Vacuna con la cepa 19 de *Brucella abortus*

Una vacuna muy utilizada para prevenir la BrB en el ganado bovino es la vacuna que se prepara con la cepa S19 de *B. abortus*. Como ya se mencionó continúa siendo la vacuna de referencia con la que comparar el resto de las vacunas. Se utiliza como una vacuna viva que por lo general se administra a terneras de entre tres y seis meses de edad en forma de una dosis única subcutánea de $5-8 \times 10^{10}$ microorganismos viables. Se puede administrar al ganado adulto una dosis subcutánea reducida de 3×10^8 a 3×10^9 microorganismos, pero algunos animales generan títulos persistentes de anticuerpos y pueden abortar y excretar la cepa vacunal con la leche. Como alternativa se puede administrar a ganado de cualquier edad en una o dos dosis de 5×10^9 microorganismos viables por vía conjuntival; esto produce protección frente a *B. abortus* sin una respuesta duradera de anticuerpos. La vacuna debe prepararse a partir de inóculos derivados del USDA (OIE, 2018).

En Uruguay se utilizó desde 1946 de forma voluntaria con una cobertura que no superaba el 10%. En el año 1964 se hace obligatoria la vacunación sistemática de las hembras bovinas entre tres y seis meses de edad hasta 1996 donde se suspendió. Su suspensión se debió a la consideración de que se estaba frente a un escenario de muy baja prevalencia que permitía enfrentar la erradicación y declararse así libre ante la Organización mundial de salud animal (OIE) y en un escenario de disminución de la cobertura de vacunación.

2.5.2. Vacuna con la cepa RB51 de *Brucella abortus*

Esta cepa es utilizada desde el año 1996 en varios países de forma oficial para prevenir la brucelosis del ganado bovino.

La eficacia de la cepa RB51 en comparación con la protección inducida por la S19 en el ganado bovino es motivo de controversia (Moriyón *et al.*, 2004), pero es utilizada en varios países de América como México, Chile, EE. UU. y Uruguay. Cada país utiliza métodos ligeramente diferentes de administración de la vacuna.

Esta vacuna denominada RB51 es una cepa viva rugosa de *Brucella abortus* que cuenta con LPS sin la cadena O, por tanto, no da títulos de anticuerpos que puedan ser medidos por los métodos convencionales.

Se desarrolló por pasajes seriados en medio selectivo, lo que da una cepa igualmente inmunogénica, pero menos virulenta que la vacuna cepa 19. Es un producto biológico liofilizado con un estándar de 10 a 34 mil millones (10×10^9 hasta 30×10^9) de bacterias por dosis (manual de vacunación con cepa RB51).

La vacunación de BrB, aplicada adecuadamente, suele reducir los signos clínicos de la enfermedad en un rebaño, pero no inmuniza a todos los animales ni erradica la enfermedad de una población. La vacuna correctamente utilizada en rodeos infectados y de alto riesgo, puede ser útil como complemento de un programa de manejo efectivo del rodeo.

Se recomienda la vacunación de terneras (cuatro - doce meses) con dosis de $1-3,4 \times 10^{10}$, y la revacunación desde los 12 meses en adelante con una dosis similar para inducir un efecto booster y aumentar la inmunidad. (OIE, 2018).

La vacunación incrementa la resistencia, pero no siempre evita la infección, aunque la vacunación de animales infectados puede reducir la excreción de la bacteria, no elimina la infección.

Vacunaciones RB51 por año

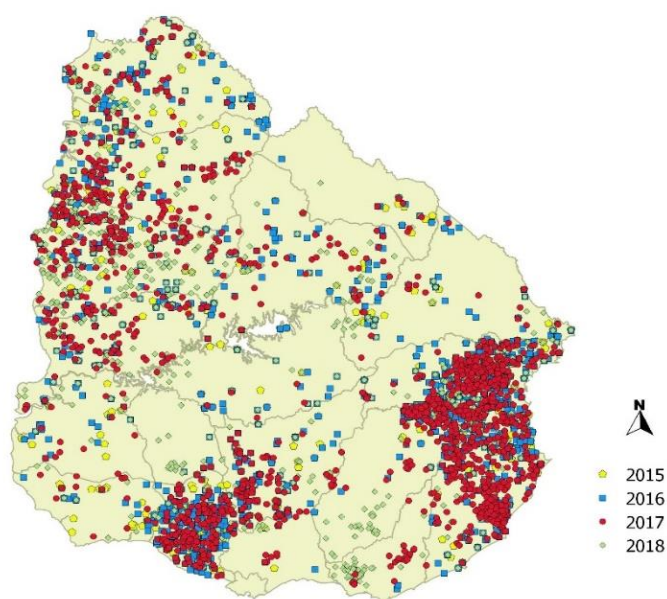


Figura 4. Distribución de la vacunación con RB51 en Uruguay en el periodo 2015-2018

En Uruguay solo está autorizada la vacuna cepa RB51, ya que no da resultados confundibles con títulos de anticuerpos por infección con *Brucella* detectables por las pruebas serológicas utilizadas. La vacunación está limitada a veterinarios debidamente acreditados y supeditados a lo que la autoridad sanitaria competente defina como condición para realizar la misma y en rodeos que han sido caracterizados como de

riesgo sanitario. La vacunación a las categorías animales recomendadas y en zonas con mayor exposición al agente la constituye en una muy buena herramienta para la campaña. Estos procedimientos deben ser revisados y actualizados en la medida que avanza la campaña sanitaria.

Es de vital importancia el correcto almacenamiento y transporte de la vacuna a la que se debe proteger de la temperatura ambiente (refrigerada entre 2 y 4 °C) y de la luz. Debe ser aplicada dentro de una hora luego de ser reconstituida y agitada antes de extraer la dosis ya que una característica de las cepas rugosas es la tendencia a aglutinar.

2.6. Brucelosis bovina como zoonosis

La infección por *Brucella* es fácilmente transmisible al ser humano, en el que causa un proceso febril ondulante (aumento y descenso profuso de la fiebre) pudiendo avanzar a una forma crónica y generar complicaciones graves que afecten los sistemas muscular, esquelético, cardiovascular y sistema nervioso central. Deben aplicarse medidas de precaución para prevenir la infección humana. La infección se contrae básicamente por vía oral, respiratoria o conjuntival. La ingesta de productos lácteos crudos constituye el principal riesgo. Existe un peligro ocupacional en veterinarios, trabajadores de mataderos y ganaderos que manipulan animales/canales infectados y fetos abortados o placentas. La BrB también es una de las infecciones de laboratorio más fáciles de contraer, y todas las manipulaciones de laboratorio relacionadas con cultivos vivos o material que pueda estar infectado o contaminado deben realizarse a un nivel de bioseguridad y contención adecuado, que se determinará a partir de un análisis del riesgo biológico (OIE, 2018).

Tabla 6. Mecanismos de transmisión de la infección

<i>Vía de infección</i>	<i>Puerta de entrada</i>	<i>Fuente de infección</i>	<i>Población de riesgo</i>
oral	mucosa digestiva	leche cruda, derivados lácteos	población en general
por contacto	piel erosionada, conjuntiva, mucosa nasal	productos animales contaminados: placenta, heces, secreciones vaginales	trabajadores en contacto con animales infectados o sus productos (veterinarios, matarifes, cuidadores), personal de laboratorio
respiratoria	mucosa nasal	aerosoles en laboratorios con muestras contaminadas, vacunas vivas, aerosoles en establos, lanas	personal de laboratorio, trabajadores de la lana, personal de limpieza de los establos.
parenteral	inoculación accidental, transfusiones	vacunas vivas, material biológico contaminado	personal de laboratorio, veterinarios, población en general.

Acta Bioquím Clín Latinoam 2005; 39 (2): 203-16

Se presenta como una antrozoosis, pero no existe contagio de humano a humano salvo que el contagio pueda ocurrir como consecuencia de la manipulación clínica de material infectado.

Desde el punto de vista profesional en la figura 5 se muestran las posibles vías de contagio.

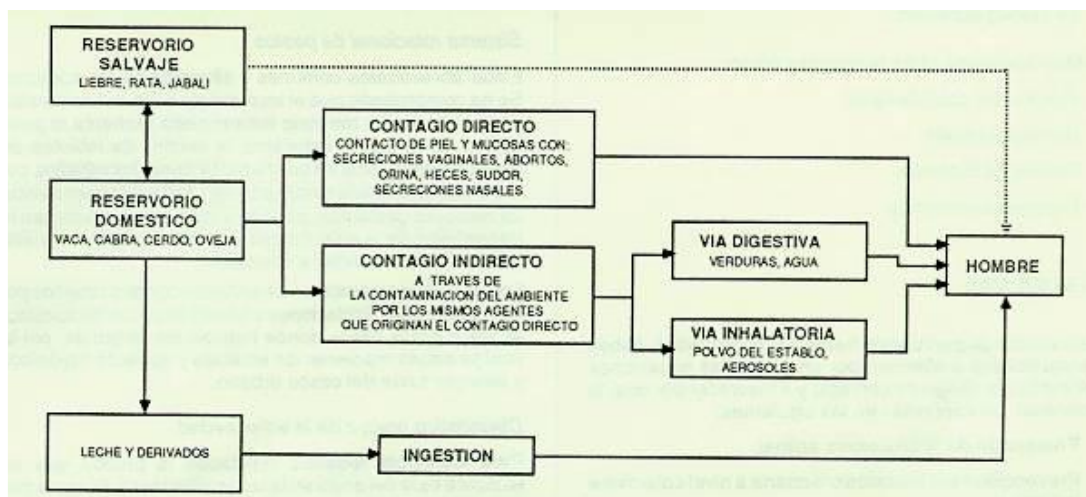


Figura 5. Cadena epidemiológica de la Brucelosis

La BrB es una enfermedad que se autolimita o se vuelve crónica y en ocasiones son infecciones asintomáticas. La etapa aguda se manifiesta con fiebre elevada, escalofríos, sudoración, dolores musculares y articulares. Es difícil la identificación de la enfermedad en esta etapa, ya que los signos y síntomas pueden ser comunes a otras enfermedades como la salmonelosis, tuberculosis o leptospirosis. Debido al uso de antipiréticos u antibióticos puede no aparecer el clásico patrón de fiebre ondulante. La lista de enfermedades y eventos sanitarios de notificación obligatoria se dividen Grupo A y Grupo B que se diferencian por los plazos para su declaración al Ministerio de Salud Pública (MS). La brucelosis humana se encuentra en el Grupo B.

Tabla 7. Situación de la brucelosis en veterinarios en función de la edad en Uruguay

Veterinarios (años)	Nº de casos	Población	Porcentaje
< 50	13	1328	0,98%
50-54	16	484	3,31%
55-59	26	328	7,93%
>59	22	201	10,95%
Total	77	2341	3,29%

Fuente: (Censo Nacional Veterinario, 2010)

En el censo Nacional Veterinario del año 2010 un 3% de los veterinarios tuvo brucelosis adquirida durante el ejercicio de la profesión y aumenta en función de la edad.

La incidencia anual puede variar desde valores inferiores a 0.01/100.000 habitantes en países desarrollados hasta cifras superiores a 200/100.000 habitantes en países menos desarrollados.

Tabla 8. Distribución de casos humanos confirmados de Brucelosis en Uruguay por año

Año	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018
Nº casos confirmados	10	27	15	0	6	0	3	3	0	3	7

Fuente: (OIE, 2019)

En Uruguay la incidencia ha tenido variaciones anuales como se ve en la tabla 8.

Desde el año 1906 se investiga el desarrollo de vacunas humanas inocuas y eficaces. La aplicación en el hombre de vacunas a gérmenes muertos o vivos atenuados se ha dejado de lado por su baja eficiencia y por las reacciones colaterales que producen.

En los humanos hay una tendencia a la resistencia natural la cual es mayor hasta la edad de la pubertad. La exposición severa a las brúcelas y la variación de la susceptibilidad individual puede producir el quiebre de la resistencia natural. Los hombres cuenta con más elevada frecuencia de infección que las mujeres; debido a sus ocupaciones de mayor exposición a la infección; pero esta tendencia puede cambiar debido al ingreso de las mujeres en tareas similares de riesgo (Casas Olascoaga, 2008).

En un estudio de 14 trabajadores de la industria frigorífica que contrajeron la BrB diagnosticados y asistidos en el marco del seguro de accidentes y enfermedades profesionales de Uruguay, se vio que dos correspondieron a mujeres y doce a hombres. Ocho de los trabajadores pertenecían al sector faena, tres a mondonguería, vísceras y corrales, dos a limpieza y uno a mantenimiento. (Pisani, A., Vacarezza, M. y Tomasina, F., 2017).

Capítulo 3. Definición del problema de investigación y metodología empleada

3.1. Definición del problema

A nivel internacional los países que han erradicado la BrB realizaron durante muchos años la vigilancia serológica de los animales susceptibles con criterios de ir eliminando la enfermedad de zonas geográficas, controlando los movimientos y el estatus sanitario de cada uno de los animales que se movilizan por largos periodos de tiempo. Estas medidas de vigilancia por su alto costo nunca han sido aplicadas en forma total en Uruguay. Es así que durante muchos años se aplicó un criterio de investigación y control de movimientos basados en definir como zona de riesgo las secciones policiales donde se encontraban focos activos (en cuarentena). Este criterio fue cuestionado por diversos actores ya que se entendía que las áreas de vigilancia no se correspondían con la ubicación exacta del foco y no contemplaba bien aquellos focos que estaban sobre áreas marginales de la sección policial o compartían más de una sección y solo se aplicaba la vigilancia sobre la que estaba registrado.

Como medidas alternativas al criterio de sección policial y considerando que los servicios veterinarios cuentan con acceso a un sistema de información geográfico (SIG) que tiene georreferenciados a la gran mayoría de los establecimientos agropecuarios, se planteó la utilización de este sistema para crear diferentes áreas “*buffers*” de riesgo a partir del establecimiento sobre el cual aplicar las medidas de vigilancia y control de movimiento de animales susceptibles. Se busca evaluar comparativamente la eficiencia de las medidas de vigilancia por Seccional Policial de Riesgo (SPR) y contrastarla con tres zonas geográficas de contención centrada en el foco: linderos, buffer de tres km y buffer de cinco km.

El análisis epidemiológico espacial ha estado en el origen de la epidemiología y ha experimentado un singular impulso con la aparición y desarrollo de los Sistemas de Información Geográfica y de programas computacionales para el análisis espacial de datos georreferenciados. Cuando los datos espaciales están referenciados a un punto, se pueden aplicar distintos métodos de análisis espacial, dentro de los cuales aquellos basados en ventanas móviles que no solo pueden determinar si una ocurrencia de enfermedad es del tipo agregada o en conglomerados, sino que también localizarla geográficamente (Kulldorf et al, 1998).

Las enfermedades infectocontagiosas en general tienen una distribución en el espacio y el tiempo no aleatorias lo que significa que podemos identificar momentos y áreas con mayor frecuencia, es decir de mayor riesgo. Estando los factores ecológicos y ambientales fuertemente asociados a los geográficos como tipo de suelos, cobertura vegetal, fauna y posibilidades productivas, en la medida que se identifican “clústers” de la enfermedad su presencia probablemente se asocia a estas condiciones ambientales. Desde el punto de vista práctico la identificación de los conglomerados nos permite formular hipótesis causales y centrar esfuerzos y recursos para el control.

Si se cuenta con un buen programa de control de la BrB, acompañado de vigilancia y registro de datos hay algunos de los indicadores epidemiológicos importantes que nos permiten entender el estado de situación en que se encuentra dicho programa. Algunos de estos indicadores son el tiempo de saneamiento y el tiempo en saneamiento de los focos aun en cuarentena.

En Uruguay una vez identificado un foco, de acuerdo con la legislación, deberá comenzar su saneamiento, lo que implica a grandes rasgos la detección de los animales portadores y el sacrificio sanitario de los mismos (envío a faena o sacrificio in situ). Habiéndose eliminado las fuentes de infección detectadas y luego de un periodo mínimo de cuatro meses desde la detección, se deberá hacer una nueva serología y en caso de ser negativa se repetirá aproximadamente a los cuatro meses. Cuando se obtienen dos serologías completas negativas, se considera que el foco está saneado y esto puede ser obtenido en un tiempo mínimo de ocho meses. Lo ideal es que este periodo sea más extenso para incluir una parición desde la eliminación de las fuentes de infección, y dar oportunidad de sero-convertir a aquellas hembras que hayan sido expuestas en la parición anterior. Por estas razones es interesante conocer los tiempos “de” y “en” saneamiento de los focos de la BrB y la reincidencia de rebaños focos de BrB son indicadores epidemiológicos que nos pueden señalar áreas de dificultades en los programas de control, por lo que es indicado tenerlos presentes.

La vigilancia para BrB se basa en pruebas serológicas de animales susceptibles: previas a que sean introducidas en un nuevo rebaño, después de la faena, de los participantes en remates y ferias ganaderas, la refrendación anual de los rebaños lecheros y el rastreo de los rebaños implicados con individuos positivos. La vigilancia previa a movimiento y la de remates y ferias son primariamente para evitar introducir la enfermedad en rebaños libres y en segunda instancia detectar nuevos focos. La vigilancia en faena y en predios relacionados epidemiológicamente (que compartieron animales susceptibles con un foco previo a su detección) son para detectar nuevos focos.

Los recursos logísticos y costos de las diferentes medidas de vigilancia requieren evaluarse en su capacidad de detección de nuevos focos lo que se llevará adelante a través del análisis de los diferentes componentes de la vigilancia y su eficiencia para la detección de la enfermedad. Para ello se determinarán los niveles de detección para cada actividad de vigilancia de manera de evaluar cada una de las serologías para detectar un nuevo foco. Frente a lo antes expuesto consideramos fundamental abordar el problema planteado en el marco de esta investigación dado el impacto negativo que la existencia de esta enfermedad genera en Uruguay. En primer término, el riesgo en la salud de la población por ser una zoonosis. Como expresan (Pisani, A., Vacarezza, M. y Tomasina, F., 2017), según los datos registrados en el Departamento de vigilancia epidemiológica del MS de Uruguay, de 2005 a 2012 se dieron múltiples casos de brucelosis en humanos. Se considera la enfermedad a nivel mundial como generadora de grandes pérdidas económicas en la salud pública. En segundo término, el impacto económico en

la producción a nivel país, ya que exporta un alto porcentaje de su producción ganadera generando un gran efecto en el producto bruto interno (PBI).

3.2 Objetivos

3.2.1. Objetivo general

Evaluar diferentes estrategias y escenarios de vigilancia como forma de apoyo a la toma de decisiones en la campaña de control y erradicación de la brucelosis bovina en Uruguay.

3.2.2. Objetivos específicos

Evaluación y comparación de diferentes estrategias territoriales de vigilancia en relación a los focos: sección policial u otras áreas de contención o riesgo a partir del foco.

Identificación de conglomerados geográficos de focos de brucelosis bovina y descripción de algunos indicadores epidemiológicos.

Evaluación de los componentes de vigilancia más eficientes para la detección de focos de la enfermedad.

3.3. Materiales y Métodos

A continuación, especificamos los diferentes materiales y métodos de investigación desarrollados en función de los objetivos específicos planteados.

3.3.1. Evaluación y comparación de diferentes estrategias territoriales de vigilancia en relación a los focos: sección policial u otras áreas de contención o riesgo a partir del foco

En relación con cada foco se hace el seguimiento a partir de su detección de un año (12 meses), por lo que el marco temporal del análisis es anual y la base de datos analizada fue la de los años 2015 y 2016. Con esta estrategia estimamos los valores medios de vigilancia promedio de los focos durante un año de seguimiento.

Para determinar las diferencias entre la vigilancia por SPR y la de determinar como zona de riesgo linderos o zonas buffers se investigan los establecimientos, movimientos y cantidad de animales que involucran cada una de las estrategias. Esto es posible gracias a que los establecimientos están georreferenciados y a los datos aportados en la declaración jurada anual, a las guías de propiedad y al tránsito para ver cuántos movimientos y animales se mueven en ese periodo de tiempo.

Se asume que la distribución es uniforme, por tanto, todos los establecimientos tienen la misma probabilidad de tener la enfermedad tanto dentro de la seccional policial (SP)

como dentro de los buffers. Las áreas no cubiertas por la vigilancia se estiman bajo este supuesto.

Se utilizan las bases del SNIG para identificar la ubicación de los focos y definir las áreas involucradas en cada escenario, así como la base de datos de movimientos grupales de las categorías susceptibles a la BrB con relación a dichas áreas. La base de datos del SISA brinda el histórico de serologías para brucelosis en cada establecimiento involucrado en las distintas áreas en el periodo de tiempo analizado.

El acceso a estas bases de datos fue facilitado por los Servicios Ganaderos del MGAP, contemplando los aspectos éticos del uso responsable de la información y resguardo de la confidencialidad de los datos individuales de productores.

3.3.2. Identificación de conglomerados de focos de brucelosis bovina y descripción de algunos indicadores epidemiológicos.

Para la identificación de los conglomerados o “clúster” se utiliza el programa SatScan (Kulldorff M., 1997). En el análisis espacial se emplea el modelo Bernoulli donde los focos son identificados con el valor de 1 en la variable y los establecimientos libres (no focos) como 0. Cuando se determinan los clústers se calcula la intensidad o magnitud del riesgo, es decir cuánto es el riesgo que hay dentro de esa área que se identificó con respecto al área de referencia. El programa genera anillos y calcula la probabilidad de contener rebaños infectados (focos). El anillo con la máxima probabilidad y con un número de casos mayor que el esperado es el clúster más probable. La numeración de los clústers va a estar dado por el orden que está ubicado con respecto a la significancia estadística y esta se determina a través de la simulación de Monte Carlo. Todos los clústers que tengan un valor de $p < 0,05$ se consideran como estadísticamente significativos.

Para establecer los indicadores del tiempo de saneamiento, días en saneamiento y reincidencia de focos se utiliza la base de datos del SISA.

3.3.3. Evaluación de los componentes de vigilancia más eficientes para la detección de focos de la enfermedad

El área de estudio son los establecimientos rurales con animales susceptibles dentro de Uruguay y el enfoque es retrospectivo y cuantitativo. La población de estudio fueron los bovinos registrados mediante la caravana de trazabilidad en la base de datos (SNIG)

Criterios de inclusión: bovinos susceptibles (reproductores enteros) mayores de un año, registrados en el sistema de información y pertenecientes a establecimientos identificados por N° de DICOSE.

Criterios de exclusión: establecimientos identificados por N° de DICOSE sin bovinos susceptibles en el periodo de estudio.

Base de datos: se utiliza el SISA, que recopila la información de lectura de cada animal relacionado con las muestras serológicas correspondientes y el ingreso de los resultados RBT.

La base de datos contiene todos los registros individuales de serologías realizadas a partir del 1° de enero de 2013. Los registros anteriores no están individualizados con la trazabilidad, solo está identificado el rebaño y los resultados de cada muestra.

Capítulo 4. Resultados y discusión

A continuación, se presentan y la discuten los resultados de cada uno de los objetivos específicos planteados.

4.1. Evaluación y comparación de diferentes estrategias territoriales de vigilancia en relación a los focos: sección policial u otras áreas de contención o riesgo a partir del foco.

Al comparar la eficiencia de las medidas de vigilancia por SPR determinadas a partir de un foco de BrB y por diferentes zonas contención centradas en el foco se entiende que hay que tener en cuenta la legislación sanitaria. Las zonas consideradas de alto riesgo, las que se ponen en cuarentena “*interdictan*” y los animales susceptibles que se movilizan de estos predios en dichas zonas deben tener una serología negativa previa, la cual tiene una validez de 120 días.

Tabla 9. Predios totales involucrados a partir de todos los 98 focos iniciados en el 2015 según las diferentes estrategias de vigilancia.

Estrategia	Misma SPR	Dif SPR	Total
Lindero	739	339	1,078
Buffer 3 Km	166	101	267
Buffer 5 Km	369	231	600
Seccional Policial	25,432	0	25,432
Total	26,706	671	27,377

En la tabla 9 contabilizamos los totales de predios por cada estrategia que quedan dentro de la misma SP del foco y cuantos fuera. Cabe aclarar que al buffer de tres km se le deben adicionar los linderos y en el buffer de cinco km los linderos y buffer de tres km., ya que son áreas que se encuentran incluidas por definición. La estrategia de las SP con todos los establecimientos asociados a esas seccionales (n= 26.706). Se debe precisar que cada foco se toma con exclusión (asumiendo independencia) de los otros por lo que muchos de los predios son contabilizados por más de un foco cuando se superponen las áreas de riesgo y los tiempos mensuales de vigilancia. Observamos que el 31% de los linderos cae fuera de la SP y en las áreas buffer este porcentaje se incrementa aún más, lo cual en cierta medida respalda la postura del cambio de criterio.

Tabla 10. Serologías registradas en el SISA y asociadas a los 12 meses siguientes de cada uno de los focos 2015 y sus resultados según las diferentes estrategias de vigilancia

Estrategias	N° sueros	Sueros BrB +	N° focos	N° análisis	N° Rebaños
Lindero	245.365	754	58	2.293	1.078
Buffer de 3 Km	7.560	28	6	348	267
Buffer de 5 Km	34.948	59	14	907	600
Seccional Policial	1.705.961	1.982	243	44.085	25.432
Total	1.993.834	2.823	321	47.633	27.377

En la tabla 10 incluimos los sueros y sus resultados según cada estrategia de definición de área de riesgo. Se asume que cada área en relación a un foco es excluyente de áreas similares en relación a otros focos. Las áreas de superposición entre los focos dependerán del número de focos y se irán reduciendo en la medida que estos disminuyan.

Tabla 11. Valores medios, desvío estándar (DE), mínimos, máximos, medianas percentil 75 y percentil 25 de los establecimientos asociados a los 98 focos del 2015 analizados según las estrategias de vigilancia

Estrategias	Media	DE	Mínimo	Máximo	Mediana	P75	P25
Lindero	11	9	1	59	9	14	5
Buffer de 3 Km	14	10	1	60	11	18	7
Buffer de 5 Km	20	16	1	113	16	24	10
Seccional Policial	274	102	62	612	276	315	185

En la tabla 11 describimos las medias del número de establecimientos implicados por cada estrategia para un foco. Consideramos que las medianas y medias tienen valores similares lo cual lleva a pensar que estamos frente a una distribución bastante simétrica. También encontramos que en relación con el número de establecimientos implicados si bien va en aumento de linderos a buffer de tres km y de este al buffer de cinco km, el salto a SP multiplica por más de 10 veces los establecimientos a vigilar. En estos casos cada estrategia superior ya incluye la inferior cuando corresponde.

Tabla 12. Sueros y sus resultados y número de focos según estrategia

Estrategias	N° Sueros		RBT+		Confirmatorias		Focos detectados	
	Media	DE	Media	DE	Media	DE	Media	DE
Lindero	2.504	2.535	9,86	29,83	7,69	27,37	0,59	0,89
Buffer de 3 Km	2.581	2.499	10,29	29,82	7,98	27,36	0,65	0,97
Buffer de 5 Km	2.937	2.556	11,26	30,21	8,58	27,65	0,80	1,22
Seccional Policial	20.264	9.603	50,14	69,95	28,77	47,17	3,27	3,19

En la tabla 12 se pueden ver los valores medios y los desvíos estándares (DE) de los números de sueros y sus RBT, confirmatoria (FPA) y el número de focos detectados por año según las diferentes estrategias de vigilancia y se observa la eficacia de las diferentes definiciones de las áreas de riesgo sometidas a vigilancia medidas a través del número de sueros, cuántos de estos resultan positivos, se confirman y detectan un foco. Al tratarse en la mayoría de los casos de áreas incluyentes, en la medida que se amplían estas áreas también lo hacen estos parámetros.

Tabla 13. Estimación de costos en serología y de detección de cada foco por estrategia de vigilancia y medidas de eficiencia

Estrategias	Serología (US\$)	% RBT+	Confirmatorias		Focos	
			%/RBT+	%/Sueros	%/Establ	US\$/Foco
Lindero	\$ 12.520	0,39%	78%	0,31%	5,36%	\$ 21.220
Buffer 3 Km	\$ 12.905	0,40%	78%	0,31%	4,64%	\$ 19.854
Buffer 5 Km	\$ 14.685	0,38%	76%	0,29%	4,00%	\$ 18.356
Seccional Policial	\$ 101.320	0,25%	57%	0,14%	1,19%	\$ 30.985

En la Tabla 13 mostramos se estiman medias de costos de la serología (US\$), de la detección de cada foco (US\$/Foco) y medidas de eficacia como ser: los porcentajes de reaccionantes a la prueba de *screening* (%RBT+), confirmación de las presuntivas (%/RBT+), confirmados con relación a la población (%/Sueros), nuevos focos detectados (%/Establ).

A los efectos de medir la eficacia de las diferentes estrategias se construye esta tabla que estima los costos de cada estrategia asumiendo cinco dólares por animal y por serología, incluyendo en esto el proceso de extracción, reactivos y procesamiento, así como de todos los profesionales implicados. De esta forma se estima el costo por detección de cada nuevo foco según áreas de riesgo definidas en la estrategia de vigilancia.

Al aumentar el área aumenta el número de sueros y por lo tanto el costo de la vigilancia en las diferentes áreas. En cuanto al número de reaccionantes en pruebas presuntivas y confirmatorias prácticamente fluctúan en valores similares entre linderos y los buffers de tres y cinco km, cayendo en eficacia cuando pasamos al área de la SP observándose relativamente menos presuntivas y a su vez menos de estas confirmadas. Una explicación para esta situación sería que la prevalencia real en la SP seguramente es

menor que en las áreas más cercanas al foco, lo cual hace descender el porcentaje de presuntivas y a su vez cae el porcentaje que se confirman por el efecto que tiene la prevalencia sobre el valor predictivo positivo (VPP).

Mayor vigilancia implica mayor número de muestras y mayor número de detección de focos en números absolutos, pero en términos relativos a eficacia y costo el área buffer de cinco km sería la que ofrece un mejor resultado económico por foco detectado.

Tabla 14. Bovinos susceptibles y número de movimientos de salida de los establecimientos implicados en cada foco según las estrategias de áreas de riesgo

Estrategias	Bovinos susceptibles		N° movimientos	
	<i>Media</i>	<i>DE</i>	<i>Media</i>	<i>DE</i>
Lindero	763	1031	26	29
Buffer 3 Km	788	1033	28	29
Buffer 5 Km	891	1038	34	30
Seccional Policial	10923	5217	500	244

En la tabla 14 se observa el número medio y desviaciones estándares de bovinos susceptible movidos con destinos diferente de faena y de movimientos de salidas desde las áreas definidas como de riesgo para la estrategia de vigilancia implicadas en los 12 meses considerados para cada foco.

Comparando estos valores con los de la tabla 12 se observa que el número de sueros procesados es prácticamente el doble de los que se deberían generar por movimientos. Probablemente esto se deba a que en el caso de los linderos y de los relacionados epidemiológicamente (aquellos que tuvieron animales en común en los dos últimos años) se les realiza un censo de susceptibles en lugar de solo analizar los que se moverán, así como podrían estar contabilizados en algunos casos serologías de saneamiento. Si bien no se puede excluir que haya algunas omisiones en la vigilancia con estos datos y este análisis no es posible detectarla.

4.2. Identificación de conglomerados geográficos de focos de brucelosis bovina y descripción de algunos indicadores epidemiológicos.

Análisis espacial usando el modelo Bernoulli

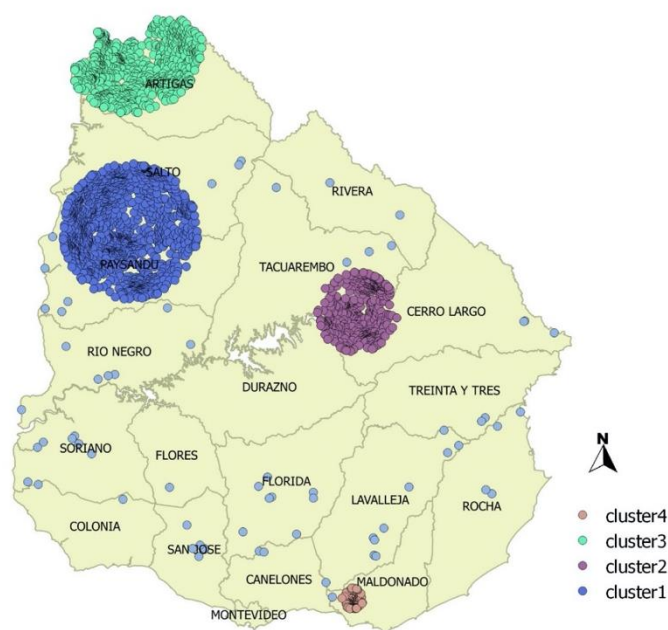


Figura 6. Mapa del Uruguay con los cuatro conglomerados “clusters” identificado para la brucelosis bovina. 2019.

En la figura 6 mostramos el mapa de Uruguay con los clusters identificados donde la frecuencia de rebaños que estadísticamente tiene una alta significación que en el resto del territorio.

En el análisis espacial identificamos las cuatro mayores áreas de riesgo y lo ponderamos de la siguiente manera:

- Cluster 1: el radio de este anillo es de 60 km, donde un predio ubicado en el mismo tiene casi 10,9 veces más riesgo de tener BrB que otro predio fuera de los anillos, con un nivel de significación <0.01 .
- Cluster 2: un predio ubicado en el anillo dos de 35 kilómetros, tiene 11,5 veces más riesgo de tener BrB que otro predio fuera de los anillos, con un nivel de significación <0.01 .
- Cluster 3: un predio ubicado en el anillo tres de 64 kilómetros, tiene 5,7 veces más riesgo de tener BrB que otro predio fuera de los anillos con un nivel de significación <0.023 .

- Cluster 4: un predio ubicado en el anillo 4 de 9 kilómetros, tiene 16,3 veces más riesgo de tener BrB que otro predio fuera de los anillos con un nivel de significación <0.026 .

La BrB sigue teniendo un comportamiento regional diferencial como se puede advertir en el mapa donde cuatro áreas definidas tienen una mayor concentración de los rebaños infectados. A su vez hay una mayor concentración de la problemática desde el centro del país hacia el norte del mismo. Este análisis indicaría que se deberían disponer más recursos en las áreas indentificadas, lo cual podría estar efectuándose debido a las estrategias de vigilancia que se están adoptando en el Programa.

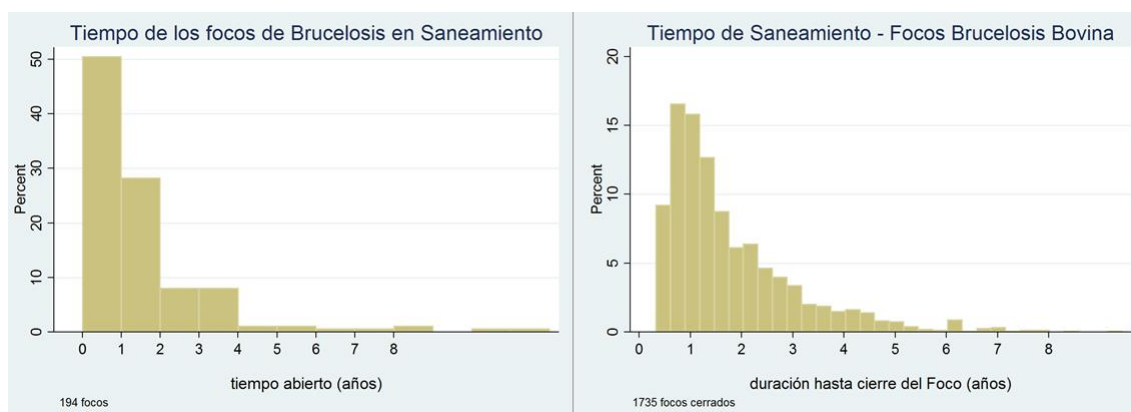


Figura 7. Antigüedad de los focos en saneamiento y distribución de la duración del saneamiento en los focos que han cerrado.

En la figura 7 graficamos la actual distribución de los tiempos de saneamiento de aquellos establecimientos que actualmente son focos y los que ya fueron saneados. La primera gráfica de la figura 2 muestra la antigüedad de los focos en saneamiento “focos abiertos”. De estos casi el 80% tienen menos de dos años de antigüedad y son muy pocos los considerados como crónicos. En la gráfica restante de la misma figura sobre la base de 1.735 focos que fueron saneados encontramos una distribución en el tiempo de la duración del saneamiento, observando que aproximadamente el 80% logran sanearse en tres años o menos. Algunos focos aparecen como saneados en menor tiempo de lo esperado según las normas, lo que podría deberse a pequeños establecimientos que optaron por la despoblación de las categorías susceptibles para luego repoblar.

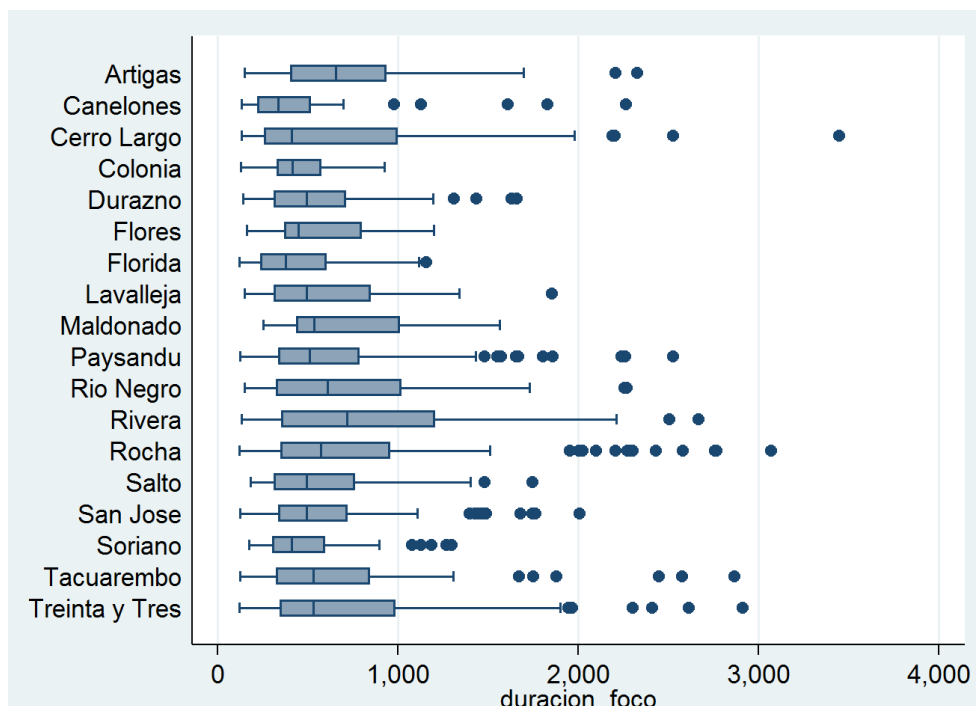


Figura 8. Duración en días del saneamiento de los focos cerrados por departamento

De los 1735 focos cerrados desde que hay registros en el SISA se puede ver un comportamiento bastante similar en los diferentes departamentos en el tiempo que dura entre que se abre y se cierra un foco.

Tabla 15. Prevalencia inicial según estrato y giro

Año	Leche			Carne		
	<500	500-1000	>1000	<500	500-1000	>1000
2015	7,47%	2,01%	0,54%	6,12%	1,87%	0,53%
2016	10,49%	3,12%	1,47%	5,01%	1,26%	0,43%
2017	3,44%	0,38%	0,09%	4,72%	1,29%	0,46%
2018	1,72%	0,69%	0,30%	4,49%	0,95%	0,38%

En la tabla 15 exponemos la evolución de la prevalencia inicial en función del giro de producción y el tamaño. Se da una disminución de la prevalencia inicial en el correr de los años con la excepción del año 2016 en el giro lechería. Este indicador puede orientarnos de cuán precozmente se está detectando el foco.

La reincidencia de rebaños con BrB es un elemento preocupante en el saneamiento ya que puede ser un indicador de fallas en las reglas seguidas en el mismo. Las razones por las cuales un rebaño puede ser declarado como saneado y aun tener animales con la infección puede deberse a varios factores como ser transmisión vertical, infección en las categorías de terneras o vaquillonas que van a ser los reemplazos del predio o vendidas y difundir a otros lugares, o fallas en el diagnóstico por no existir una sensibilidad

perfecta en las pruebas de utilizadas. En los primeros casos, cuando se trata de animales jóvenes estos no van a seroconvertir hasta que entran en la etapa reproductiva y hacia etapas con una gestación avanzada por lo que es plausible que se den estas situaciones. También las reincidencias se pueden deber a reinfecciones de los rebaños independientemente de los antecedentes previos.

Tabla 16. Histórico de focos de brucelosis bovina según giro productivo por categorías de repetición de los focos

Focos	Carne	Leche	Total
Únicos	1.286	411	1.697
2 veces	46	18	64
3 veces	1	1	2
Total	1.333	430	1.763

En la tabla 16 presentamos la casuística de la reincidencia de focos donde más del 96% no han reincidido y solo el 0,11% reincidió más de dos veces. No se encuentran diferencias evidentes entre los giros lechero y carnívero.

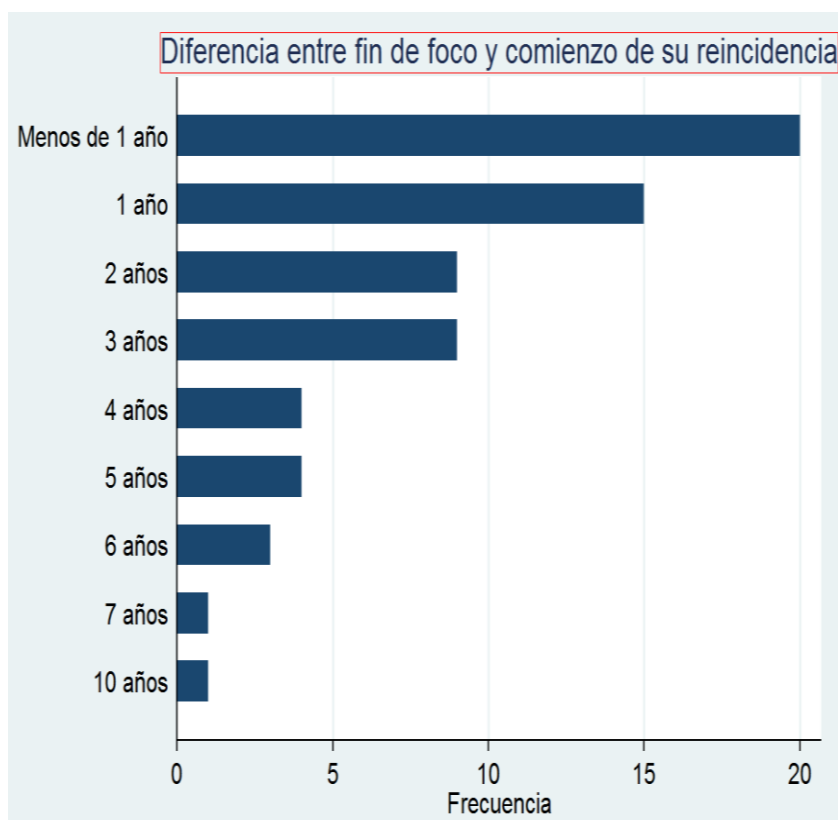


Figura 9. Distribución de frecuencias relativas de los focos reincidentes en relación a su antigüedad al momento de la reincidencia.

En la figura 9 observamos cómo ha sido la distribución de los focos reincidentes en el tiempo donde el 35% reincidentió dentro del primer año posterior al saneamiento. Estos probablemente reincidentieron por haber sido declarados saneados y por algún motivo no lo estaban o también cabría la posibilidad que se deba a reintroducción de animales infectados. Los largos periodos de incubación pueden llevar a la falla en el saneamiento, también puede ser por las propias pruebas de diagnóstico que no son perfectas o por la seroconversión tardía de animales gestantes que habrían sido expuesto en la parición anterior.

Tabla 17. Frecuencia relativa porcentual de reincidencia por año

Año	% reincidencia
2010	0,2758%
2011	0,4413%
2012	0,5516%
2013	0,4413%
2014	0,4413%
2015	0,4413%
2016	0,2758%
2017	0,1655%
2018	0,8274%
Total	3,8610%

Encontramos cómo se distribuye en estos años de estudio la reincidencia, teniendo en cuenta que a partir del 2017 cuando se cierra un foco queda en cuarentena por un año más, teniendo que sangrar previo al movimiento es que se refleja ese pequeño aumento en el año 2018.

Reincidencia de Focos

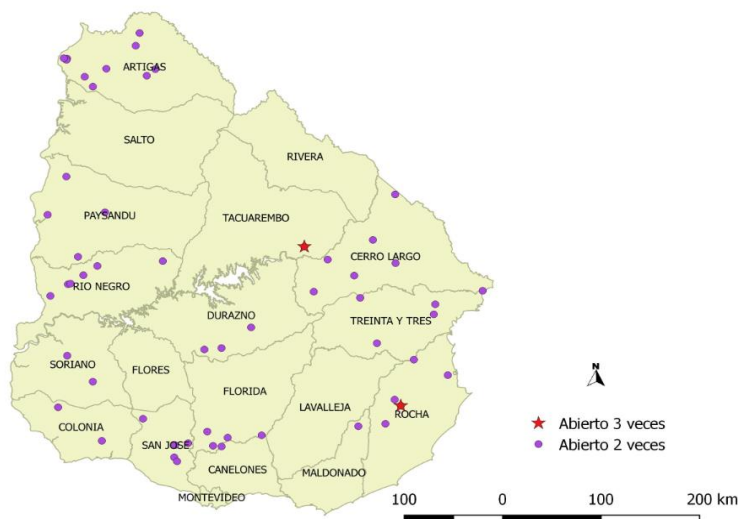


Figura10. Ubicación geográfica de los focos que han reincidentido desde el inicio del programa de control de BrB en este siglo

En la figura 10 exponemos el mapa del Uruguay y la ubicación de cada uno de los focos reincidentes, por haber repetido una o dos veces. No identificamos ningún conglomerado geográfico evidente, por lo que no se trataría de una situación que obedezca a factores regionales. Estos elementos junto con la relativa baja frecuencia de la reincidencia, no lo hacen, lo suficientemente relevante como para implementar actividades especiales en la situación actual de la campaña. Sin embargo, no se debe descartar que su frecuencia este subestimada, debido a los criterios administrativos para otorgar nuevos números de DICOSE, en algunas ocasiones sin conocimiento de la autoridad sanitarias.

4.3. Evaluación de los componentes de vigilancia más eficientes para la detección de focos de la enfermedad

La vigilancia serológica en mataderos es ampliamente utilizada en los programas sanitarios contra la BrB, inclusive en muchos países luego de años de que la enfermedad ha sido erradicada. La principal razón de utilización de este método de vigilancia es que, si bien la población de faena está sesgada en el caso de las hembras bovinas hacia animales mayores, al tratarse de una enfermedad que produce portadores crónicos las probabilidades de detección son buenas y los costos son más bajos porque la toma de muestra tiene un costo marginal asociado a la propia faena.

Debido a las carencias de infraestructura y de recursos humanos suficiente no es posible procesar todas las hembras faenadas en Uruguay, por lo que se procesa una muestra aleatoria de las tropas de aproximadamente 20 animales/tropa con lo cual se detectará un positivo con 95% de confianza si la tropa tiene un 15% o más de prevalencia.

Tabla 18. Vigilancia serológica en frigoríficos por año

Año	Faena			Muestras		
	Tropas	Hembras	Sueros	% faena	BrB+	%BrB+
2015	20.122	1.077.512	420.659	39%	207	0,049%
2016	13.671	1.138.749	294.289	26%	48	0,016%
2017	14.044	1.156.452	263.199	23%	100	0,038%
2018	13.896	1.181.810	252.750	21%	162	0,064%
Total	61.733	4.554.523	1.230.897	27%	517	0,042%

En la tabla 18 mostramos las tropas y animales susceptibles faenados, muestras serológicas procesadas para BrB (sueros), número de confirmatorias positivas (BrB+) y porcentaje relación a los sueros procesados por año.

Estudiamos los resultados de los muestreos de faena en el periodo 2015-2018. El RBT es realizado por el laboratorio oficial y se aplica en serie como prueba confirmatoria (FPA). Cuando aparece un animal confirmado positivo, inmediatamente se desencadena la investigación epidemiológica con el fin de determinar el foco de la enfermedad y los predios relacionados epidemiológicamente.

La cantidad de sueros procesados y el porcentaje de hembras faenadas a las cuales se le han extraído muestras tiene una tendencia decreciente. Los valores en porcentaje de muestras confirmadas serológicamente como positivas a BrB (%BrB+), por un lado, muestran valores similares a los muestreos de estimación de la prevalencia aparente que se muestran en el cuadro 1 y que demuestran un estado de situación muy bueno con respecto a la enfermedad ratificado con cientos de miles de muestra. Por otra parte se muestra a partir de 2016 una tendencia de crecimiento de ese porcentaje anualmente, lo cual podría ser preocupante si se confirma en futuros muestreos o si no se explica por algún sesgo en la toma de las muestras.

A su vez se observa una disminución del número de muestras extraídas y un aumento de la cantidad de hembras faenadas; lo que deja en evidencia una menor presión de vigilancia en este componente en el correr de estos años, cuando cada vez es más difícil encontrar un animal positivo.

Tabla 19. Resultados de serologías y costos por año

Año	Resultados serología			Costos U\$S	
	Sueros	Focos	% focos	Serología	Foco
2015	420.659	25	0,0059%	525.824	21.033
2016	294.289	10	0,0034%	367.861	36.786
2017	263.199	9	0,0034%	328.999	36.555
2018	252.750	14	0,0055%	315.938	22.567
Total	1.230.897	58	0,0047%	1.538.621	26.528

En la tabla 19 vemos el número de muestras de suero, focos detectados, porcentaje de focos por sueros procesados y estimaciones de costos de la serología y de la detección de un nuevo foco por año, 2015-2018. Se reportan los focos detectados por la vigilancia en faena y se estiman los costos involucrados anualmente en la aplicación de esta forma de vigilancia y cuál es el costo que tiene la detección de cada foco. Los porcentajes de positividad para BrB de los sueros que vemos en la última columna de la tabla 18 es de 0,042% en el acumulado de los cuatro últimos años el cual es muy inferior a los reportados en la tabla 13 para la vigilancia en las distintas zonas de riesgo donde fluctúa desde 0,14% en la SP a 0,31% en las otras zonas. Si bien la capacidad de detección de un suero positivo es entre tres y siete veces menor que la vigilancia en las zonas de riesgo considerando el costo por foco que observamos en las tablas 13 y 19 esa brecha

se acorta y se aproximan lo suficiente como para no abandonar ninguno de las dos estrategias.

Llama la atención el descenso significativo del número de muestras extraídas de faena (aproximadamente un 40% en relación al año 2015). Como vimos si se compara el costo con las otras estrategias de la vigilancia esta resulta en un componente muy significativo y que aporta información de zonas donde no hay vigilancia y hay animales susceptibles. Es importante tener en cuenta que además al ir disminuyendo la cantidad de muestras y no ser todos los frigoríficos que vigilan la cobertura no solo se disminuye en cantidad sino en calidad.

Que se detecten varios focos nuevos en faena de zonas consideradas de riesgo indica que es importante este componente ya que no solo se detectan en zonas donde no hay información, sino que hay focos que no se están detectando de zonas donde está el riesgo y complementa la investigación de esas zonas.

En los establecimientos lecheros, que remiten su producción o parte de ella a las plantas industriales, vienen con muchos años de presión de vigilancia para la BrB. La vigilancia en estos establecimientos es a través de las muestras en leche tanque primero con la prueba de anillo en leche y en la actualidad con pruebas de ELISA. Anualmente deben realizar un censo sanitario “refrendación” donde se muestrean todos los animales susceptibles para brucelosis.

Tabla 20. Resultados serológicos y estimación de costos a partir de habilitaciones y refrendaciones de tambos por año

Año	Bovinos			Establecimientos			Costos U\$S	
	Sueros	BrB+	% BrB+	Tambos	Focos	% focos	Serología	Foco
2015	446.610	199	0,045%	3.276	7	0,214%	2.344.703	334.958
2016	428.088	5	0,001%	3.120	3	0,096%	2.247.462	749.154
2017	439.941	27	0,006%	3.046	5	0,164%	2.309.690	461.938
2018	466.027	12	0,003%	3.102	5	0,161%	2.446.642	489.328
Total	1.780.666	243	0,014%	12.544	20	0,159%	9.348.497	467.425

En la tabla 20 exhibimos los resultados serológicos para BrB y estimaciones de costos de las habilitaciones y refrendaciones anuales de los establecimientos lecheros del Uruguay por año, 2015-2018.

El mantenimiento de una población de bovinos de leche relativamente estable, así como la obligatoriedad legal de realizar estas pruebas hace que no haya diferencias importantes en la cantidad de muestras procesadas (sueros) anualmente.

De una primera observación de este cuadro llama la atención la cantidad de animales positivos en 2015, lo que podría deberse a que algún establecimiento grande resultó positivo con una prevalencia también alta, considerando que el número de focos no acompañó el gran aumento en el número de vacas positivas. Los valores del porcentaje de positivos confirmados (% BrB+) son las prevalencias aparentes calculadas sobre la

población, no tienen error estadístico, pero si tienen el error de las pruebas de diagnóstico. El error de las pruebas de diagnóstico con tan bajo nivel de prevalencia es de alta relevancia y hacen prácticamente imposible estimar la prevalencia real. Estos valores justificarían los resultados de no estimación o estimaciones límites obtenidos en los muestreos como se menciona en el cuadro 1. Solo basados en la serología, no es posible generar grandes conclusiones ya que los valores obtenidos están dentro de los márgenes posibles de obtener en poblaciones libres.

Cabe destacar que en este cuadro solo se expuso los datos de las habilitaciones y refrendaciones, pero se detectan nuevos focos en predios lecheros con los otros componentes de la vigilancia, lo que confirma la importancia de la complementariedad de cada componente del sistema.

Los costos en este componente son altos para los focos detectados, pero por otro lado demuestran cómo la aplicación de medidas de vigilancia con gran cobertura de la población lleva a la enfermedad a los límites de la desaparición. El costo de detección de un foco con esta medida de vigilancia es por lejos el más alto, pero probablemente se justifica su mantenimiento por los riesgos zoonóticos de esta enfermedad y para evitar retroceder en los avances logrados.

En el control de movimientos de riesgo en el año 2017 gracias al desarrollo de nuevas herramientas informáticas se cambió la zona considerada de riesgo que era la SP, a la interdicción de los predios linderos y tras-linderos. Es un método útil para encontrar infección y excelente método para evitar la propagación de la BrB desde zonas de riesgo, aunque puede dar una falsa sensación de seguridad si el rodeo está infectado sin detección y los animales que mueven son negativos aun estando expuestos o incubando la infección.

Tabla 21. Vigilancia serológica a partir de movimientos de zonas caracterizadas de riesgo por año

Año	Movimientos		Serología Brucelosis		Focos		Costo (U\$S)	
	Nº	Bovinos	BrB+	%BrB+	Nº	%/suero	Serología	Focos
2015	26.788	722.482	428	0,059%	24	0,0033%	3.793.031	158.043
2016	26.743	983.850	242	0,025%	30	0,0030%	5.165.213	172.174
2017	17.364	834.052	145	0,017%	22	0,0026%	4.378.773	199.035
2018	10.963	761.191	116	0,015%	10	0,0013%	3.996.253	399.625
Total	81.858	3.301.575	931	0,028%	86	0,0026%	17.333.269	201.550

En la tabla 21 se muestra la distribución anual del número de movimientos y de animales susceptibles implicados en la vigilancia de brucelosis, resultados serológicos (BrB+) animales muestreados y positivos en función de movimientos.

Al ser menor la cantidad de predios obligados a realizar la serología previa al movimiento notamos una disminución en la cantidad de movimientos vigilados. No obstante, observamos que el número de muestras no cae en la misma proporción que los

movimientos controlados y el número de muestras por movimientos sube significativamente pasando de un cociente de 27 muestras/movimiento en el 2015 a 69 muestras/movimientos en el 2018. El costo de las serologías por movimiento es alto, pero es una muy eficaz medida de vigilancia porque puede evitar la introducción de la enfermedad a un nuevo establecimiento. Observamos que cada año se requieren más serologías para detectar un foco lo que va en consonancia con un programa que estaría avanzando. El cambio de estrategia del 2017 no es acompañado de mejoras en los indicadores de desempeño, quizás por un decrecimiento de la prevalencia real.

Tabla 22. Vigilancia con motivo de la investigación oficial de establecimientos rastreados por estar relacionados epidemiológicamente con los focos de BrB

Año	Serologías bovinas			Establecimientos			Costo (U\$S)	
	Sueros	BrB+	% BrB+	N°	Focos	% focos	Serología	Focos
2015	243.306	284	0,117%	1872	38	2,03%	1.277.357	33.615
2016	119.598	366	0,306%	1147	35	3,05%	627.890	17.940
2017	251.662	445	0,177%	1996	54	2,71%	1.321.226	24.467
2018	223.669	393	0,176%	1869	55	2,94%	1.174.262	21.350
Total	838.235	1488	0,178%	6884	182	2,64%	4.400.734	24.180

En la tabla 22 exponemos la investigación de establecimientos relacionados epidemiológicamente con los focos, serologías, focos detectados y costos involucrados por año, en el periodo 2015-2018. Podemos ver los resultados de este tipo de investigación sobre la detección de focos y animales serológicamente positivos para BrB. El porcentaje de sueros positivos a la prueba confirmatoria es sensiblemente superior a las prevalencias esperadas lo que es indicativo del mayor riesgo que significan estos establecimientos. El porcentaje de establecimientos detectados como nuevos focos son muy superiores a los porcentajes medios esperados para el país, lo que reafirma el criterio de insistir con esta estrategia, que a su vez desde el punto de vista de los costos es muy buena.

Los expertos entienden que la vigilancia en los predios con relaciones epidemiológicas a los focos es un punto crítico para ver el alcance de la infección, sin descartar que en algunos casos estos podrían ser las fuentes de infección original. Consideramos que se debe mejorar la vigilancia en estos establecimientos, tanto en espacio como en tiempo, teniendo en cuenta que el periodo de incubación puede ser largo y son esenciales para asegurar la eliminación de las fuentes de infección. Este componente es muy eficiente ya que se vigilan los predios donde hay sospechas por alguna relación epidemiológica (integrante de las zonas de riesgo y/o movimientos de animales susceptibles entre estos rebaños y un foco) o por denuncias.

El avance en el programa de control se puede ver en la figura 11 donde se grafica la relación entre focos detectados y predios vigilados.

Con la caída de la prevalencia es de esperar que cada vez sea más difícil encontrar un nuevo foco.

Si bien la vigilancia serológica durante estos años se ha incrementado o mantenido, el porcentaje de establecimientos con algún tipo de vigilancia en el año que se detectan como focos ha caído en forma sustancial. Encontramos que en el 2005 más del 6% de los establecimientos con vigilancia terminaban siendo nuevos focos de la enfermedad y a partir del 2010 estos valores se encuentran por debajo del 1%, fluctuando de un año a otro. Esto estaría demostrando que en general la prevalencia cae y la enfermedad se rarifica.

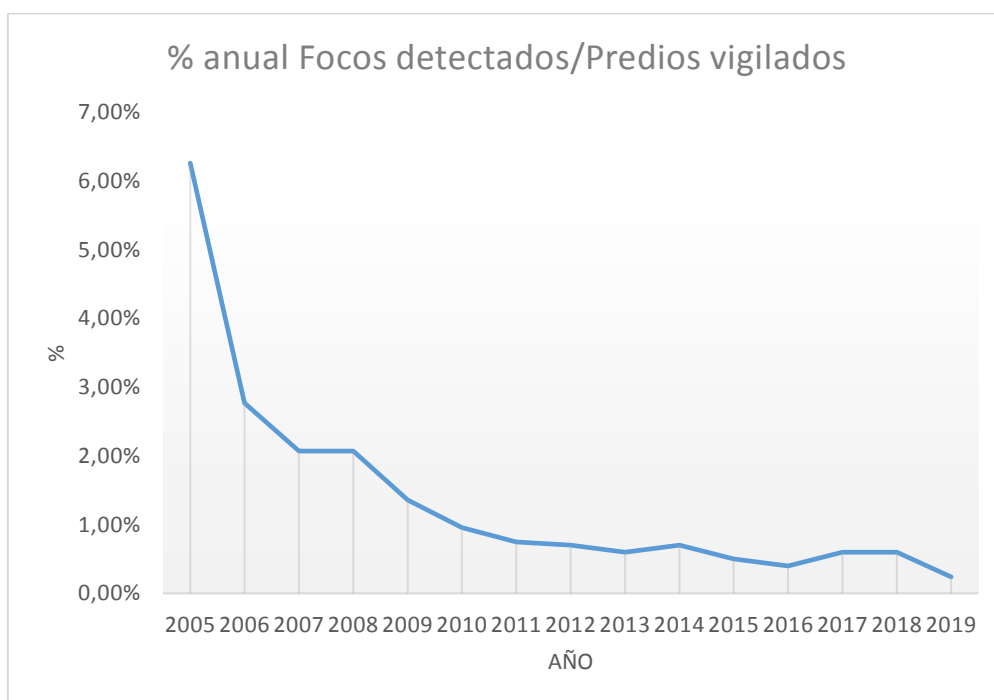


Figura 11. Porcentaje anual de establecimientos vigilados que se detectan como nuevos focos de BrB.

En la figura 12 se ratifica esta situación al observar que el número de serologías anuales necesarias para detectar un nuevo foco (N° serologías/ N° focos) también se ha incrementado a través de los años de aplicación del programa.

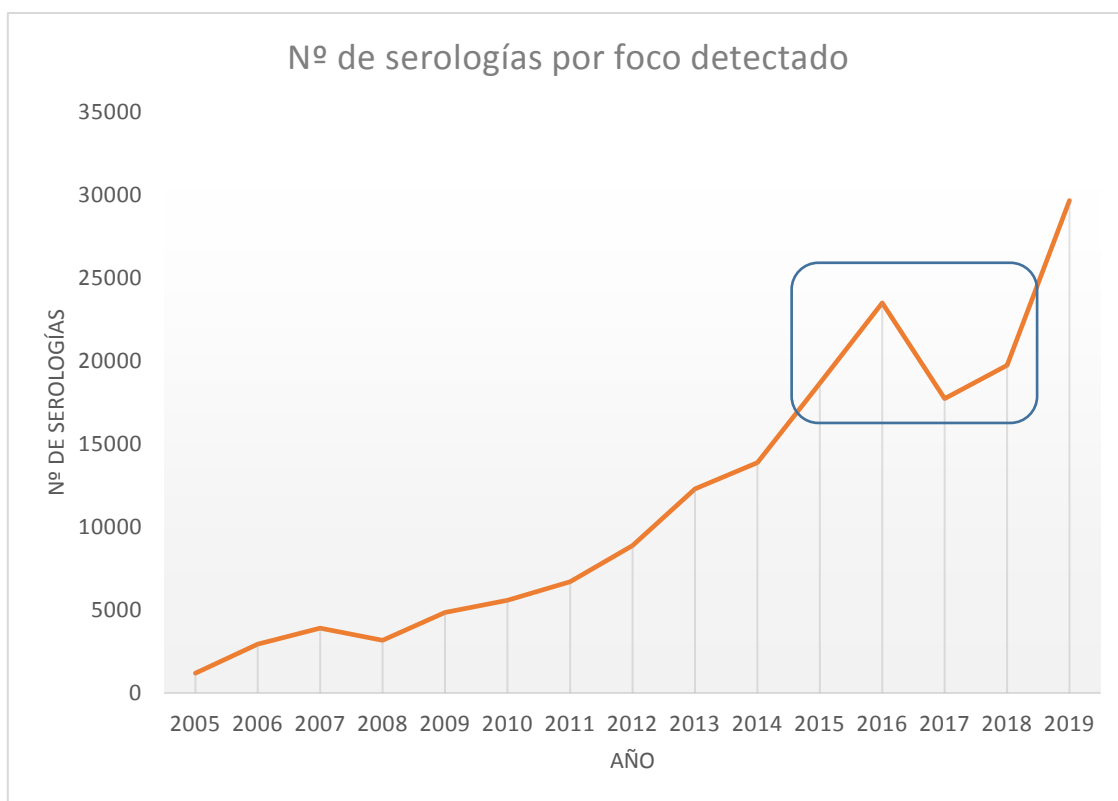


Figura 12. Evolución temporal del número de serologías anuales para detección de un foco. 2005-2019.

Localizamos en la figura 12 un aumento del número de animales analizados (sueros) en función al avance anual para encontrar un foco. En el periodo de 2015-2018 hay un quiebre de la tendencia, que podríamos atribuir al cambio de estrategia en la vigilancia previa a los movimientos, iniciada en el 2017.

En la figura 13 observamos los datos del número de focos cada 100 mil serologías para cada sistema de vigilancia para la detección de un foco de BrB. Si bien no se percibe una tendencia clara en relación a la evolución temporal, sí claramente se contempla que se mantiene el orden de efectividad de los distintos componentes pese a las fluctuaciones anuales.

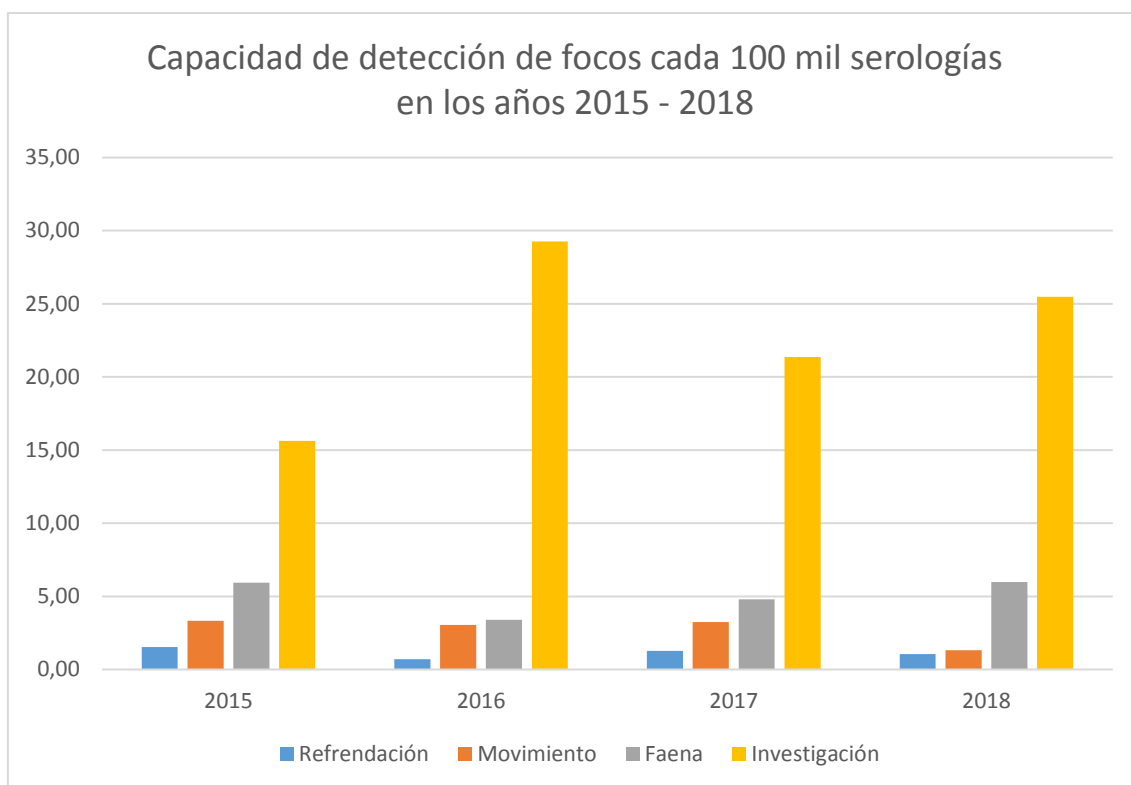


Figura 13. Evolución temporal del número de focos detectados cada 100 mil muestras serológicas en función del componente de vigilancia empleado en los años 2015-2018.

Como ya discutimos en este objetivo específico la refrendación es la que más requiere muestras serológicas para identificar un foco debido a la alta presión de vigilancia en la subpoblación de bovinos lecheros, que han llevado a que la prevalencia en ese giro sea muy menor. La investigación en establecimientos relacionados epidemiológicamente a los focos parece ser la medida más efectiva ya que claramente se trata de una población con mayor riesgo y por lo tanto con una mayor prevalencia lo que incrementa su eficacia.

Capítulo 5. Consideraciones finales

En nuestra investigación indagamos y analizamos la estrategia empleada y la actualización constante efectuada de los instrumentos utilizados en la campaña sanitaria llevada adelante en Uruguay para erradicar la BrB.

Los propósitos de nuestra investigación se centraron por una parte en evaluar y comparar diferentes estrategias territoriales de vigilancia en relación a los focos, como ser la seccional policial u otras áreas de contención o riesgo a partir del foco, por otra parte, identificar conglomerados de focos de BrB y describir algunos indicadores epidemiológicos que son útiles para medir desempeño. A su vez evaluar los componentes de vigilancia más eficientes para la detección de focos de la enfermedad.

Los resultados muestran cómo al evaluar y comparar diferentes estrategias territoriales de vigilancia en relación a los focos: sección policial u otras áreas de contención o riesgo a partir del foco, encontramos que si lo consideramos en términos relativos a eficacia y costo el área buffer de cinco km sería la que ofrece un mejor resultado económico por foco detectado.

En referencia a la identificación de conglomerados de focos de brucelosis bovina observamos que sigue teniendo un comportamiento regional diferencial en determinadas áreas que tienen una mayor concentración de los rodeos infectados. También queda evidenciado que hay una mayor concentración de la problemática desde el centro del país hacia el norte del mismo.

Algunos de los indicadores epidemiológicos estudiados, como ser el tiempo que llevan abiertos los focos, se ve que casi el 80% de los focos tienen menos de dos años de antigüedad y los focos cerrados logran su saneamiento en menos de tres años en el 80% de los casos. Esto estaría sugiriendo que hay que centrar una buena parte de los esfuerzos en ese 20% de focos crónicos que seguramente tienen condiciones ecológicas o de manejo que permiten el mantenimiento de las fuentes de infección. Otro indicador es la reincidencia de focos los cuales muestran que solo el 4% de los focos han reincidido y de estos 35% reincidió dentro del primer año posterior al saneamiento, probablemente por haber sido declarados saneados y por algún motivo no lo estaba. A su vez no evidenciamos conglomerados geográficos de estos predios que reinciden lo que en principio descartaría factores ecológicos/ambientales como una causa probable. La vigilancia posterior al cierre del foco implantada a partir del 2018 fue acompañada por un aumento en la detección de focos reincidentes, lo cual refuerza los argumentos para continuar con esta medida.

Los sistemas de vigilancia son fundamentales para el control de la BrB a través de la detección de nuevos focos. Como venimos viendo en Uruguay los principales componentes son refrendación/habilitación de tambos, serologías previas a los movimientos de animales susceptibles, muestreos de hembras en faena e investigación de rebaños relacionados epidemiológicamente con los focos ya sea por razones geográficas (linderos, tras linderos) o por movimientos de reproductores entre ellos en los 2 últimos años a partir de la detección del foco.

Se observa que el muestreo en faena ha ido descendiendo el número de serologías y ha aumentado la cantidad de hembras faenadas de forma significativa en el correr de los años y comparando su costo con otros componentes se observa que es menor y a su vez aporta valiosa información de zonas donde no hay vigilancia y complementa otras estrategias al encontrar focos de zonas donde está el riesgo, pero que por alguna razón no se detectó. No todos los establecimientos de faena realizan vigilancia lo que lleva a que siga habiendo zonas donde hay animales susceptibles y no hay datos de vigilancia, por lo cual se debería incrementar los estímulos para fortalecer este aspecto del programa de BrB. Este incentivo puede lograrse de diversas formas, una opción podría ser que aquellos frigoríficos que no tomen muestras de suero de animales susceptibles debieran abonar una tasa por hembra faenada teniendo en cuenta que esto se realizó en la época que se producía vacuna anti aftosa con el método Frenkel que eran cultivos de virus sobre los epitelios de las lenguas. Los frigoríficos les vendían a los laboratorios productores el epitelio y aquellas lenguas que a las que no se les extraía el epitelio pagaban una tasa. Medida que sirvió para que enviaran epitelio.

En el componente de habilitación y refrendación de tambos encontramos que es el que tiene un mayor costo para detectar un foco, por lo que tal vez se deben tomar algunas decisiones para hacerlos más eficientes, siempre teniendo en cuenta que los tambos cada vez intensifican la producción con el riesgo esto que significa para la transmisión de la enfermedad.

En el cambio de estrategia del 2017 en la serología previa al movimiento observamos una disminución en el número de serologías, pero aumento la cantidad movimiento controlados de zonas consideradas de riesgo. Se puede ver que se necesitan cada vez más cantidad de muestras para detectar un foco, esto puede deberse a la disminución de la prevalencia real. Independientemente de la eficiencia para la detección de un nuevo foco, esta estrategia es una medida muy importante para evitar la introducción de la BrB en un predio libre y por lo tanto debería seguir utilizándose. Esto no descarta que se puedan estudiar otras alternativas para considerar las zonas de riesgo, como por ejemplo estudiar individualmente los movimientos, lugares y contactos que tuvieron a lo largo de su vida cada animal integrante del rodeo.

La investigación de los predios relacionados epidemiológicamente a focos es un componente muy eficiente y permite visualizar el alcance o la fuente de la infección. Uruguay es reconocido internacionalmente por tener una buena situación sanitaria y ha alcanzado y mantenido el estatus de libre de muchas de las principales enfermedades de la lista de la OIE, pero coexisten una serie de enfermedades que tienen directo impacto en la salud pública, en la producción, y son una barrera sanitaria para la exportación.

Las referencias internacionales de programas que han logrado la erradicación de la brucelosis bovina muestran lo difícil que es, la alta inversión que requiere, el compromiso de todas las partes involucradas tanto privadas como públicas y muchos años de trabajo. Es así que para lograr el objetivo de la erradicación es necesario tanto la cooperación de todos los actores como el compromiso de muchos recursos económicos, materiales y humanos.

El monitoreo de los indicadores descritos en esta tesis permiten evaluar el programa en forma periódicamente y realizar los ajustes necesarios de acuerdo a la realidad. Las

ideas que den origen a medidas complementarias deberían ser evaluadas como se hizo en este estudio antes de implementarlas en el terreno.

Referencias bibliográficas

- Al Diri, G., Llorens, F., Silveira, E., Perez, I. (1992). Comportamiento de la Brucelosis bovina en dos unidades estatales afectadas y vacunadas y evaluación serológica y clínica de terneras hijas de madres de esas unidades. 117-122.
- Blood, D. y Radostits, O. (1992). *Medicina Veterinaria*. Interamericana.
- Borba, M. S. (2013). Prevalence and risk-mapping of bovine brucellosis in Maranhão State, Brazil. 169-176.
- Casas Olascoaga, R. (2008). Brucelosis bovina. *Veterinaria*, 7-35.
- Castro, H., González, S. y Prat, M. (2005). Brucelosis: una revisión práctica. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 203-216.
- Darbon, A., Valdano, E., Poletto, C., Giovanini, A., Saviani, L., Candeloro, L. y Colizza, V. (2018). Network-based assessment of the vulnerability of Italian regions to bovine brucellosis. *Preventive Veterinary Medicine*, 25-34.
- Garin, A. (2011). Program of control/eradication of bovine brucellosis in Uruguay. *Brucellosis 2011. International research conference* (págs. 18-19). Buenos Aires: Asociación Argentina de microbiología.
- Gil, A. (2003). Situación de la brucelosis bovina en la población ganadera del Uruguay. *Jornadas Uruguayas de Buiatría*, 56-59.
- Gil, A., Piaggio, J., Lanfranco, B., Vongehlen, A., y Fernandez, F. (2016). Classification of farm brucellosis status in function of the herd size, test characteristics, and cut-off used., (pág. 380). Dublin, Irlanda.
- Gil, A., Piaggio, J., Suanes, A., Nuñez, A., Garin, A., Silva, Mautone, G., Zaffroni, R., Chans, N. y M., Huertas, S. (2013). Brucelosis Bovina en Uruguay. (INIA, Ed.) 1-69.
- Gil, A., Silva, M., Garin, A., Caponi, O., Chans, L., Vitale, E. (2003). Estudio transversal de la brucelosis bovina en el Uruguay. 2003. Recuperado el 26 de agosto de 2016, de Veterinary and Animal Science: <http://www.sciquest.org.nz/node/63493>
- Hernández, G., Ruiz, N., Bonilla, R., Romero, J., Jimenez, J., Gonzalez, R., Barquero, E., Chacon, C., Rojas, N., Chaves, E., Guzman, C., Moreno, E. (2017). Epidemiology of bovine brucellosis in Costa Rica: lessons learned from failures in the control of the disease. *Plos ONE*, 1-17.
- ICA. (7 de 10 de 2019). *Instituto Colombiano Agropecuario (ICA)*. Obtenido de <https://www.ica.gov.co/areas/pecuaria/servicios/enfermedades-animales/brucelosis-bovina-1/vacunacion-brucelosis.aspx>
- Instituto Nacional de Carnes. (26 de noviembre de 2016). *inac.gub.uy*. (INAC, Editor) Recuperado el 28 de noviembre de 2016, de *inac*: <http://www.inac.gub.uy/innovaportal/file/1271/1/web-bovinos-establecimiento.pdf>

- Kulldorf, M. (1997). A spatial scan statistic. *Communications in Statistics: Theory and Methods*, 26, 1481-1496.
- Kulldorff, M., Hjalmar, U. (1998). *The knox methods and other tests for space-time interaction*.
- Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. (30 de diciembre de 1996). *Decreto 552/996*.
- Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. (6 de noviembre de 2002). Decreto 432/002. Montevideo, Uruguay.
- Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. (11 de abril de 2005). Decreto 135/005. Montevideo, Uruguay.
- Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. (19 de mayo de 2005). Resolución de la DGSG N 45/005. Montevideo, Uruguay.
- Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. (9 de noviembre de 2006). Resolución DGSG N 86/006. Montevideo, Uruguay.
- Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. (18 de febrero de 2008). Decreto 100/008. Montevideo, Uruguay.
- Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. (27 de agosto de 2009). Resolución DGSG N 185/009. Montevideo, Uruguay.
- Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. (2010 de setiembre de 2010). Resolución DGSG N 128/010. Montevideo, Uruguay.
- Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. (2010 de octubre de 2010). Resolución DGSG N 828/010. Montevideo, Uruguay.
- Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. (26 de diciembre de 2012). *Decreto 441/012*.
- Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. (30 de octubre de 2012). *Resolución 186/012*.
- Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. (12 de noviembre de 2012). *Resolución 190/012*.
- Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. (25 de junio de 2012). *Resolución 96/012*.
- Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. (29 de julio de 2014). *Resolución 120/014*.
- Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. (13 de agosto de 2015). Manual de atención de foco. Montevideo, Uruguay.
- Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. (13 de Agosto de 2015). Procedimiento para movimiento de bovinos desde zonas de riesgo por Brucelosis bovina. Montevideo, Uruguay.

- Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. (13 de agosto de 2015). *Resolución 175/015*.
- Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. (24 de julio de 2015). *Resolución 599/015*.
- Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. (5 de junio de 2017). Decreto 148/017.
- Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. (2018). *Anuario Estadístico Agropecuario 2015*. Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca, Estadísticas Agroecuarías DIEA. Montevideo: MGAP.
- Moriyón, I., Grillo, M., Monreal, D., Gonzalez, D., Marin, C., Lopez, L., Mainar, R., Moreno, E., Blasco, J. (2004). Rough vaccines in animal brucellosis: Structural and genetic basis and present status. 1-38.
- Nielsen, K. (2002). Diagnosis of brucellosis by serology. 447-459.
- Nielsen, K., Wright, P., Cherwonogrodzky, J., Duncan, J., Sternshorn, B. (1985). Enzyem immunoassay for diagnosis of bovine brucellosis. 75-79.
- OIE. (7 de 10 de 2019). *Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE)*. Obtenido de <https://www.oie.int/es/>
- Piaggio, J., Lanfranco, B., Rodriguez, M., Fernandez, F., Garin, A. y Gil, A. (2016). Annual cost of sanitation of farms with bovine brucellosis in Uruguay. *World Buiatrics Congress*, (pág. 265). Dublin, Irlanda.
- Pisani, A., Vacarezza, M. y Tomasina, F. (2017). Estudio de 14 casos de Brucelosis en trabajadores de un frigorífico como enfermedad profesional. *Revista Médica Uruguaya*, 33(3), 93-98.
- Ragan V. y Ragan J. (2012). *Revisión del Programa de Brucelosis Bovina en Uruguay y Recomendaciones para su mejora*. Consultoría, Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca, Dirección General de Servicios Ganaderos, Montevideo.
- Ragan, V. (2011). Programa de erradicación de Brucelosis en Estados Unidos. X *Congreso Latinoamericano de Buiatría, XXX Jornadas de Buiatría*. Paysandú.
- Repiso, M., Gil, A., Bañales, P., D`Anatro, N., Fernandez, L., Guarino, H., Herrera, B., Nuñez, A., Olivera, M., Osawa, T., Silva, M. (2005). Prevalencia de las principales enfermedades infecciosas que afectan el comportamiento reproductivo en la ganadería de carne y caracterización de los establecimientos de cría del Uruguay. Obtenido de INIA: <http://www.ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/2812/1/15630041107073506.pdf>
- Rodríguez, M., Garín, A., Lagarmilla, P., Hernández, A. y Facal, C. (2011). *Costos del Programa de Brucelosis Bovina en el Uruguay*. Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. Montevideo: MGAP.
- Samartino, L. (6 de 2007). Obtenido de <https://www.icscyl.com/aulas/modules/icontent/inPages/brucelosis/textos/3.%20Samartino.pdf>

- SENASA. (7 de 10 de 2019). *Servicio de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA)*. Obtenido de <http://www.senasa.gob.ar/normativas/resolucion-67-2019-senasa-servicio-nacional-de-sanidad-y-calidad-agroalimentaria>
- Silva Paravis, M., Muller, G., Errico, F. (1998). Validating a Bovine Brucellosis Elisa Test for Application in Uruguay. *International atomic Energy agency (IAEA) IAEA-TEC DOC-1055*, 45-47.
- Uruguay. (9 de noviembre de 1961). Ley 19.937.
- Uruguay. (11 de enero de 1994). Ley N° 16.462.
- Uruguay. (31 de diciembre de 2003). Ley N° 17.730.
- Uruguay. (27 de diciembre de 2010). *Ley N° 18719*.
- Uruguay. (26 de 12 de 2014). Ley 19.300.
- Uruguay, R. O. (13 de abril de 1910). Ley N° 3606 Policía sanitaria animal. Montevideo, Montevideo, Uruguay.
- USDA. (23 de 5 de 2017). *United States Department of Agriculture (USDA)*. Obtenido de <https://www.aphis.usda.gov/aphis/ourfocus/animalhealth/nvap/NVAP-Reference-Guide/Control-and-Eradication/Brucellosis>
- Verger, J. (1985). *B. Melitensis infection in cattle*.
- Zambrano, M. y Pérez Ruano, M. (2016). Evaluación de la aplicación del programa de control de brucelosis bovina en la provincia de Manabi, Ecuador. *Salud Animal*, 79-84.
- Zhang, N., Huang, D., Wu, W., Liu, J., Liang, F., Zhou, B. y Guan, P. (2018). Animal brucellosis control or eradication programs worldwide: A systematic review of experience and lessons learned. *Preventive Veterinary Medicine*, 105-115.