



PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA ARGENTINA

Ingeniería Agronómica

Importancia de la aplicación de la hemovacuna en la prevención del complejo de Tristeza Bovina en el sur de la provincia de Corrientes.

Trabajo final de graduación para optar por el título de:
Ingeniería Agrónoma

Autor: Aquino Atuel

Tutor: Med.Vet. Cabrera Miguel Ángel

Índice

Resumen.....	4
Palabras claves:.....	5
Introducción:.....	5
Hipótesis:.....	10
Objetivo.....	10
Desarrollo:	10
Animales en estudio.....	11
Muestras.....	13
Inoculación	14
Procesamiento de muestras y análisis de laboratorio.....	17
Centrifugación	17
Test de Elisa Indirecto.....	19
Resultados	20
Discusión	20
Conclusión	22
Bibliografía.....	23

Resumen

El complejo de Tristeza Bovina es una de las enfermedades de mayor impacto económico para el ganado bovino en la región del NEA. Las condiciones climáticas ofrecidas por el NEA tanto de temperatura y humedad ofrecen la oportunidad a que los principales vectores (garrapatas, tábanos y otros hematófagos) de la Tristeza Bovina puedan desarrollar múltiples ciclos de vida durante todo el año. En 1941 se evidenció que el ganado joven presentaba resistencia natural a brotes de tristeza y por ello se sugirió vacunar a los terneros de 3 a 6 meses de edad, en esta etapa de su vida si el animal está en contacto con los patógenos no se observan síntomas clínicos muy importantes y los animales posteriormente adquieren una inmunidad sólida por un período de tiempo. Por el contrario, si son expuestos a los patógenos posterior a los 9 meses de edad los bovinos pueden presentar síntomas clínicos más importante y se encontraran bajo una situación de inestabilidad enzoótica en la cual pueden padecer la enfermedad. La vacuna contra el complejo de tristeza bovina es una herramienta biológica disponible para ser utilizada en terneros de 4 a 10 meses de edad que se encuentran en una situación de desequilibrio enzoótico y de alto riesgo de contraer la enfermedad. La inmunidad adquirida por la vacuna es de por vida, evita la muerte que es provocada por los agentes de la tristeza bovina y las pérdidas subclínicas en ganancia de peso y de producción que sufren los animales infestados. El objetivo de este trabajo fue evaluar la respuesta inmunitaria de la hemovacuna y analizar la presencia o ausencia de anticuerpos generados por el complejo de Tristeza Bovina en dos establecimientos de cría. El estudio se realizo en el Sur de la provincia de Corrientes en los departamentos de Curuzú Cuatiá y Monte Caseros, se trabajó con dos grupos de terneras uno perteneciente al Establecimiento El Espinillo, el cual estaba conformado por 30 cabezas de 5 a 7 meses de edad y el otro grupo perteneciente al Establecimiento Venancio Luis que estaba conformado por 16 terneras de la misma edad. Se inoculó con Babesan Hemovacuna producida por el INTA Mercedes y luego se tomaron dos muestras de sangre total, de modo individual siendo la primera el día 0 (cero) previo a la vacunación con Babesan, y la segunda el día 60 posterior de la primo vacunación. El procesamiento de las muestras se llevó a cabo en el Laboratorio FUCOSA (Red SENASA LR 0582) ubicado en Curuzú Cuatiá Corrientes y la determinación de anticuerpos se realizó en el laboratorio de Inmunología y Parasitología de la E. E. A. INTA Rafaela. Para la determinación de anticuerpos se utilizó un test de Elisa indirecto y el análisis estadístico se realizó con el programa XLSTAT con la prueba de McNemar. Se concluyó que la hemovacuna es una herramienta eficaz para generar anticuerpos contra los agentes de la Tristeza Bovina y debe ser incluida en los programas sanitarios de rutina para la protección de bovinos en áreas de inestabilidad enzoótica. Además, otro dato relevante de este trabajo es la importancia de realizar un adecuado seguimiento y evaluación de la respuesta a la hemovacuna tanto antes como después de su utilización, de esta manera podemos determinar la conveniencia de la aplicación de esta herramienta y saber cuáles fueron sus resultados.

Palabras claves:

Tristeza Bovina, hemoparásitos, hemovacuna, Inmunidad

Introducción:

El complejo de tristeza bovina hace referencia a dos enfermedades conocidas con el nombre de babesiosis y anaplasmosis. Ambas enfermedades comparten que sus síntomas clínicos son semejantes, uno de ellos es producir anemia, por lo que el animal ingresa en un estado de decaimiento general conocido como tristeza, que muchas veces es irreversible provocando la muerte de animal (Bretschneider, 2008). Dichas enfermedades en la región NEA son consideradas como unos de los problemas sanitarios de mayor importancia en la producción bovina. (Zimmer y Sarmiento, 2016). El complejo de Tristeza Bovina es causado por hemoparásitos, los mismos generan un impacto económico importante al cual lo podemos clasificar en pérdidas directas e indirectas. Dentro de las pérdidas directas, la mortalidad puede generar hasta un 30% de muertes de los animales, generando además una disminución severa de la producción de carne y leche. En las pérdidas indirectas están representadas por la mano de obra, aplicación de tratamientos, medidas de control y restricciones para la comercialización de productos. (Med. Vet Pertile y otros, 2020).

El principal vector de la tristeza bovina es la garrapata común del bovino conocido como *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Desde 1938 se busca combatir este parásito a nivel nacional mediante una ley que declara obligatorio en todo el país la lucha sistemática y ofensiva contra las diferentes especies de garrapata del ganado bovino y de los animales domésticos. (Ley Nacional 12566 Honorable Congreso de la Nación, 1938). La provincia de Corrientes no quedó ajena a esa normativa, tal es el caso que con la resolución 347 del SENASA (2004) se aprueba el Plan de Control y Erradicación de la garrapata común del ganado bovino en toda la provincia de Corrientes.

En el año 2015 en la provincia podíamos encontrar tres zonas bien diferenciadas su parte norte como zona de control, el centro como zona de erradicación y el sur como zona indemne. (Med. Vet Nestor Sarmiento, 2015).

Luego con la resolución N° 382 del Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (2017) que establece que cada provincia puede generar planes regionales o locales superiores de control y/o erradicación de la garrapata del bovino considerando cada una las particularidades socio productivas de cada región. Surge la resolución N° 165 Ministerio de Producción de la Provincia de Corrientes (2017) que aprueba el nuevo plan de control y erradicación de la garrapata común del ganado bovino y dicha resolución tendrá vigencia hasta fines del 2020.

A partir del 30 de diciembre 2020 el Ministerio de Producción de la Provincia de Corrientes con la resolución N° 1105 deja sin efecto el plan de control y erradicación de

la garrapata común de ganado bovino y actualmente el sur de la provincia de Corrientes, que pertenecía a las zonas de erradicación e indemne pasan a ser zonas de control de garrapata como la totalidad de los campos correntinos por lo tanto estas zonas se encuentran en un período de transición sanitaria donde la Tristeza Bovina pone en riesgo al rodeo bovino presente en las mismas.

Por resolución 565/21 del Ministerio de Producción de la Provincia de Corrientes pone en vigencia el nuevo Manual de Procedimiento elaborado para mitigar los efectos de los hemoparásitos debido al cambio de estatus sanitario.

La babesiosis es ocasionada por protozoarios (Rubino, 1946). Dentro de la babesiosis podemos encontrar a *Babesia bigemina* y *Babesia bovis* que son parásitos intraeritrocitarios obligatorios. La transmisión de estos parásitos es exclusivamente por garrapatas, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* es el único vector reconocido hasta la actualidad. La diferencia que existe entre *Babesia bovis* y *Babesia bigemina* es que *Babesia bovis* solo se trasmite exclusivamente por larvas de *Boophilus*, mientras que *Babesia Bigemina* se puede transmitir por las ninfas y los estadios adultos. El período de incubación de la babesiosis por *B. bovis* es más corto que en el caso de *B. bigemina* (Cipolini y otros, 2004)

Por el contrario, la anaplasmosis es ocasionada por una rickettsia (Rubino, 1946). Dicha enfermedad es infecciosa y se puede transmitir de los bovinos y otros rumiantes. Este microorganismo se transmite por la introducción de sangre fresca de un bovino enfermo o portador a uno sano. A diferencia de *Babesia* que su único vector es la Garrapata común del bovino la anaplasmosis puede ser transmitida además de la garrapata por varios vectores más como son dípteros hematófagos, dentro de ellos podemos encontrar mosquitos, moscas bravas y tábanos. Además de los vectores mencionados anteriormente la anaplasmosis cuenta con múltiples maneras más de propagación, siendo de suma importancia todos aquellos métodos operacionales en la cual se puede efectuar un pasaje de sangre, dentro de ellos se destacan agujas, descornadores, pinzas para hacer tatuajes, guantes de hacer tacto rectal, cuchillos para castrar entre otros. La inoculación de la anaplasmosis es más larga que el de babesiosis y dependerá mucho de la cantidad de *A. marginale* que se inocule al animal. En el caso de inoculaciones experimentales es de 3 a 4 semanas, pero en condiciones naturales puede ser mayor a los 90 días. (Cipolini y otros 2004).

Tabla N°1: Principales síntomas Asociados a Anaplasmosis y Babesiosis relacionados con su frecuencia (INTA, Estacion Experimental Agropecuaria Rafaela, 1995)

	Anaplasmosis	B.bovis	B.bigemina
Hipertermia	Frecuente	Frecuente	Frecuente
Anemia siempre	Marcada	Moderada a marcada	Marcada
síntomas nerviosos	Poco frecuente	Frecuente	Ausente
Hemoglobinuria	Ausente	Poco Frecuente	Frecuente
Coprostasia	Frecuente	Ausente	Ausente

Las condiciones climáticas ofrecidas por el NEA tanto de temperatura y humedad ofrecen la oportunidad a que los principales vectores (garrapatas, tábanos y otros hematófagos) de la tristeza bovina puedan desarrollar múltiples ciclos de vida durante todo el año obteniendo picos de poblaciones en verano y otoño. Los síntomas que manifiestan estas enfermedades aparentan de ser de fácil diagnóstico clínico, aunque datos brindados por la estación experimental del INTA Mercedes indican que solo un 40 % de las muestras recibidas con diagnóstico presuntivo de tristeza son positivas a dichas enfermedades (Ing. Zoot. Barbera y otros, 2018). Dentro de las principales enfermedades infecciosas que se encuentran en el NEA y se pueden confundir con el complejo de tristeza bovina encontramos rabia, leptospirosis, hemoglobinuria bacilar, carbunco y botulismo. (Med. Vet Sarmiento y Med. Vet. Zimmer, 2010). Un aspecto importante a tener en cuenta que estas patologías se pueden presentar en el rodeo en forma simultánea o en forma individual dificultando aún más su identificación, además la presentación de los síntomas es similar en muchos aspectos dejando como única opción al diagnóstico parasitológico como la herramienta capaz de diferenciarlos inequívocamente. Dicho diagnóstico consiste en la observación directa de los microorganismos en un extendido de sangre y la valoración del hematocrito (Zimmer y Sarmiento, 2016)

En 1941 se evidenció que el ganado joven presentaba resistencia natural a brotes de tristeza y por ello se sugirió vacunar a los terneros de 3 a 6 meses de edad (Rubino, 1946). Uno de los principales motivos por el cual los terneros presentan dicha resistencia es debido a que adquieren una inmunidad pasiva por el calostro materno la cual dura aproximadamente 2 meses. Luego el animal empieza a desarrollar la inmunidad innata desde los 3 a los 9 meses de edad (Mahoney y Ross, 1972). En esta etapa de su vida si el animal está en contacto con los patógenos no se observan síntomas clínicos muy importantes y los animales posteriormente adquieren una inmunidad sólida por un periodo de tiempo (Dalglish, 1993). Por el contrario, si son expuesto a los patógenos posterior a los 9 meses de edad los bovinos pueden presentar síntomas clínicos más importantes y se encuentran bajo una situación de inestabilidad enzoótica en la cual

pueden presentar la enfermedad (Callow, 1984). Por lo que se puede concluir que la inmunidad inespecífica es inversamente proporcional a la edad del animal y debe tenerse en cuenta epidemiológicamente (FAO, 2004)

En la provincia de Corrientes existen zonas que se caracterizan por las fluctuaciones de poblaciones de las garrapatas entre estaciones y años. Eso da origen como principal consecuencia que un gran número de terneros no se expongan a los agentes que causan la tristeza bovina provocando inestabilidad enzoótica lo cual genera que aumenten las probabilidades de aparición de brotes de anaplasmosis y/o babesiosis. (Med. Vet Sarmiento y Med. Vet. Zimmer, 2010)

Gracias al modelo matemático desarrollado por (Mahoney y Ross, 1972) se puede predecir sobre la probabilidad de que ocurra un brote de tristeza bovina en un rodeo, dicho modelo utiliza como principal herramienta la serología de los terneros entre 6 y 9 meses de edad. El modelo define como estabilidad enzoótica a los rodeos en los cuales más del 75 % de los animales hubieran tomado contacto con los tres agentes causantes de la tristeza bovina, *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* y *Anaplasma marginale* y define como inestabilidad enzoótica a todos aquellos rodeos en la cuales solo un 12% y 75% de sus animales tuvo contacto con los agentes. Existen zonas donde la anaplasmosis y la babesiosis no son endémicas y se puede observar menos de un 12% de los animales tuvieron contacto con alguno de los tres agentes de la tristeza bovina, dichas zonas se considera que se encuentra en una situación de riesgo mínimo de contraer la enfermedad, a menos que cambien ciertas condiciones epidemiológicas.

La vacuna contra el complejo de tristeza bovina es una herramienta biológica disponible para ser utilizado en terneros de 4 a 10 meses de edad que se encuentran en una situación de desequilibrio enzoótica y de alto riesgo de padecer la enfermedad (Solari y otros 2013). Según el M.V Trabattoni (2015) en zonas infestadas por garrapatas podemos encontrar dos subzonas:

1. Zona alto riesgo de aparición de brotes donde recomienda vacunar si menos del 75 % de los terneros tiene anticuerpos contra alguna de las tres enfermedades.
2. Zona bajo riesgo de aparición de brotes donde no se recomienda vacunar cuando más del 75 % de los terneros tiene anticuerpos contra las tres enfermedades.

A la hora de querer generar inmunidad de manera artificial contra los agentes del complejo de tristeza bovina en un rodeo bovino hay que tener en cuenta que la infección generada por *Babesia bovis* no protege ante *Babesia Bigemina*, pero sí al revés. Se demostró que muchos antígenos son comunes para ambos parásitos debido a que comparten proteínas antigénicas parecidas, pero *B. bovis* tiene más proteínas antigénicas que *B. Bigemina*. Por el contrario, en la Anaplasmosis el mecanismo inmune contra dicha enfermedad no esta totalmente entendido, pero se sabe que ante una infección con *A.*

centrale protege contra una infección de *A. marginale*, pero no a la inversa (Bock, R y otros, 2004)

La inmunidad adquirida por la vacuna es de por vida, evita la muerte que es provocada por los agentes de la tristeza bovina y las pérdidas subclínicas en ganancia de peso y de producción que sufren los animales infestados (Solari y otros, 2013). En la actualidad en el mercado argentino existen dos tipos de vacunas, una congelada en nitrógeno líquido llamada Bio jaja que es elaborada con la asistencia técnica del INTA y comercializada por un laboratorio privado del Chaco y otra vacuna que es refrigerada elaborada por el INTA Rafaela Santa Fe y el INTA Mercedes Corrientes (Juárez, 2018)

En la estación experimental INTA Mercedes Corrientes y INTA Rafaela se desarrolla Babesan que es una vacuna elaborada a partir de microorganismos vivos de *B. bovis* y *B. Bigemina* atenuados en su patogenicidad y además contiene *Anaplasma centrale* que genera inmunidad cruzada contra *Anaplasma marginale* (Med. Vet Pertile, y otros, 2020). La vacunación con cepas vivas atenuadas es altamente efectiva para inducir una respuesta inmune que confiera protección (Bock R y otros, 2004). Sin embargo, las vacunas vivas presentan algunas desventajas que dificultan su utilización. Unos de los riesgos es que existe la posibilidad de que las cepas atenuadas se reviertan en patógenas. (Timms y De vos, 1990). Otro inconveniente es el riesgo de que estas vacunas transmitan otros microorganismos patógenos originados en los bovinos dadores (Bock y otros, 1992). Además, esta práctica sugiere otra limitación que las vacunas producidas por el INTA Mercedes y Rafaela tienen una vida útil de hasta 7 días luego de su elaboración si se mantiene refrigerada entre 4 y 8 grados lo cual condiciona su utilización debido al tiempo que lleva el transporte y el trabajo de campo (M.V Trabattoni, 2015). Por el contrario, Bio jaja al ser una vacuna congelada en nitrógeno líquido permite extender los plazos de vencimiento del antígeno, facilitar su distribución, conservarlas en zonas remotas y acumular stock. Aunque cuenta como desventaja la necesidad de formular estas vacunas con el triple de eritrocitos infectados dado que el congelado y descongelado de las pajuelas provoca la disminución de la viabilidad de los parásitos.

Hoy en día estas vacunas son únicas herramientas eficaces que generan una inmunidad duradera contra estas etiologías. Mediante su utilización se logra generar una respuesta inmunitaria superior al 80% de los animales vacunados. La vacunación se utiliza una única vez en terneros de buen estado sanitario y dicha práctica debe estar supervisado por un médico veterinario (Med. Vet Pertile, y otros, 2020). Aunque el uso de las hemovacunas para prevenir la tristeza bovina no es una práctica muy habitual, lo que genera preocupación debido al tiempo que se demora en generar anticuerpos en todo el rodeo, además la babesiosis y la anaplasmosis son las primeras causas de mortalidad para la región y el 99% de los brotes se presentan en establecimientos que no vacunan (Ing. Zoot. Barbera, y otros, 2018)

Hipótesis:

La hemovacuna es una herramienta eficiente para controlar la Tristeza Bovina en rodeo con inestabilidad enzoótica.

Objetivo

Evaluar la respuesta inmunitaria de la hemovacuna y analizar la presencia o ausencia de anticuerpos generados por el complejo de tristeza bovina en dos establecimientos de cría localizados en el Sur de Corrientes (ex zona indemne)

Desarrollo:

El estudio se realizó en el sur de la provincia de Corrientes, Argentina (Figura1), en los departamentos de Curuzú Cuatiá y Monte Caseros: Establecimiento El Espinillo ($29^{\circ}57'15.9''\text{S}$ $58^{\circ}23'29.7''\text{W}$) y Establecimiento Venancio Luis ($29^{\circ}51'22.9''\text{S}$ $58^{\circ}01'02.8''\text{W}$).



Figura 1. Ubicación de la zona de estudio a nivel macro región

Mediante la utilización de la imagen satelital se puede observar la ubicación de los dos establecimientos en los cuales se desarrollaron las prácticas necesarias para el estudio.

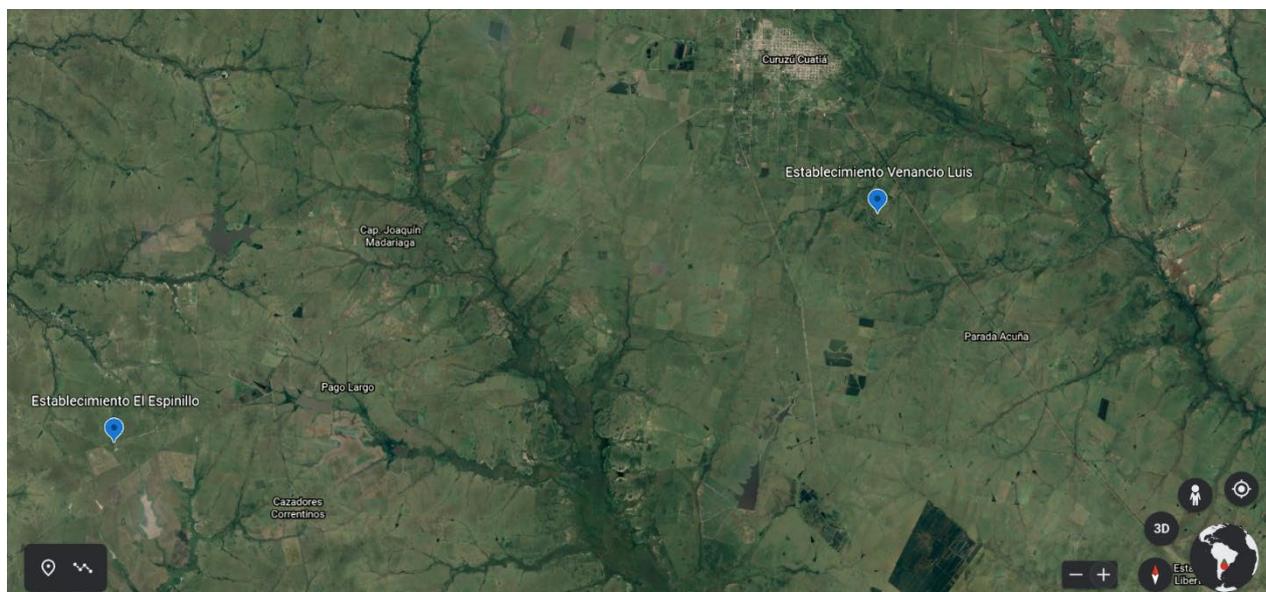


Figura 2. Ubicación de los establecimientos El Espinillo y Venancio Luis.

Animales en estudio

Se trabajo con dos grupos de terneras. Un perteneciente al Establecimiento El Espinillo el cual estaba conformado por 30 cabezas de 5 a 7 meses de edad las cuales estaban en dos lotes que se identificó con caravanas numeradas correlativamente. El otro grupo perteneciente al Establecimiento Venancio Luis estaba conformado por 16 terneras 5 a 7 meses de edad las cuales también identificaron con caravanas.

Para el establecimiento El Espinillo representa un 10% del total de su terneras y para el Establecimiento Venancio Luis 10,66%.



Figura 3. Lote 1 Terneras Establecimiento El Espinillo.



Figura 4. Lote 2 Terneras Establecimiento El Espinillo.



Figura 5. Terneras Establecimiento Venancio Luis

Muestras

Se tomaron dos muestras de sangre total, de modo individual siendo la primera el día 0 (cero) previo a la vacunación con Babesan y segunda el día 60 posterior de la primera vacunación.

La primera muestra de sangre total tiene por objetivo determinar el nivel de anticuerpos contra los agentes del complejo Tristeza Bovina. La segunda tiene por objetivo evaluar la inmunoprotección generada por la hemovacuna producida por el INTA Mercedes contra los agentes *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* y *Anaplasma marginale*.

Cabe aclarar que el momento adecuado para la toma de muestras post-vacunación se encuentra entre los 60-80 días, dado que luego de ese período los niveles de anticuerpos en sangre descienden, en primer lugar, *Babesia bigemina* y luego *Anaplasma*, según datos del Ministerio de Producción de la provincia de Corrientes (2014).

Para el Establecimiento El Espinillo la primera extracción de muestra se realizó el día 19/06/2021 y la segunda extracción 18/08/21. Para el Establecimiento Venancio Luis la primera muestra se obtuvo el día 21/06/2021 y la segunda muestra 20/08/2021.

La extracción de sangre total se realizó por punción de la vena yugular con aguja hipodérmica calibre 40/12 y se depositó en tubos de hemólisis de vidrio. Dichos tubos de hemólisis no contenían anticoagulante y fueron identificados previamente con la misma numeración de la caravana del animal.



Figura 6. Tubos de hemólisis

Inoculación

Se realizó posteriormente a la extracción de la primera muestra de sangre en cada establecimiento constituyendo el día 0. La misma fue con Babesan (Hemovacuna producida por el INTA Mercedes).

La dosis colocada a cada animal fue de 3 ml de manera subcutánea, con formación de pliegue cutáneo, en la tabla del cuello como aconseja el fabricante. Cada dosis de Babesan contiene 10 millones de eritrocitos bovinos infectados con *Babesia bovis*, 10 millones con *Babesia bigemina* y 10 millones con *Anaplasma Centrale*, suspendidos en solución salina balanceada.

Dicha vacuna se recibió por el fabricante a la temperatura correcta, se conservó en una heladera a temperatura entre 4 – 8 grados Celsius corroborado cada 12 horas con un termómetro de alcohol ubicado en interior de la heladera. Para su transporte se utilizó la misma conservadora brindada por el fabricante. Previo a la inoculación se homogenizó mezclado suavemente por varias inversiones del envase.

Para el procedimiento de vacunación se utilizaron dos conservadores, una para traslado y mantenimiento de la vacuna y otra para mantenimiento de frío de la jeringa de trabajo.

Se utilizaron grupos de agujas distintas para cada establecimiento y para cada recarga de la jeringa se procedió al recambio de agujas.

En cada establecimiento se utilizaron frascos distintos, retirados de la heladera previo a dirigirse a cada lugar para realizar el procedimiento de vacunación.

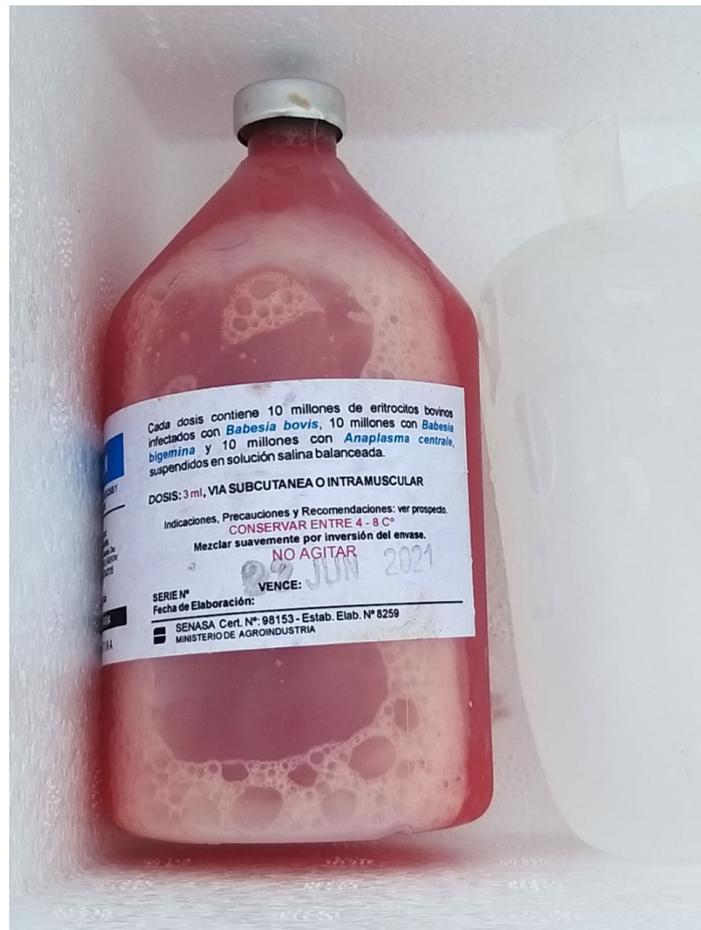


Figura 7. Vacuna Babesan en refrigeración.



Figura 8. Jeringa utilizada para la inoculación con Babesan.



Figura 9. Conservadoras donde se encuentra la Vacuna Babesan y la Jeringa.

Procesamiento de muestras y análisis de laboratorio

El procesamiento de las muestras se llevó a cabo en el Laboratorio FUCOSA (Red SENASA LR 0582) ubicado en Cruzú Cuatiá Corrientes. La determinación de anticuerpos se realizó en el laboratorio de Inmunología y Parasitología de la E. E. A. INTA Rafaela.

En el laboratorio de FUCOSA se llevó a cabo la centrifugación y congelación de los sueros obtenidos de las muestras respectivas para posteriormente trasladarlos al laboratorio del INTA Rafaela donde se procedió a su análisis con un test de Elisa para la detección de anticuerpos contra *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* y *Anaplasma* spp. Dicho traslado de muestra se realizó con el protocolo correspondiente.

Centrifugación

Previo a la centrifugación se realizó una observación de las muestras para determinar cuál de ellas ya habían contraído el coágulo y separado el suero. Las muestras que no separaron el suero fueron sometidas a centrifugación. El procedimiento se efectuó por una centrifugadora Roleo modelo 2036, durante 5 minutos a 1500 rpm.



Figura 10. Centrifugadora Roleo 2036

Para introducir las muestras a la centrifugadora se juntan de a pares, dichos pares debían contener el mismo volumen de sangre para que la centrifuga quede balanceada. Al introducir los pares se coloca uno cruzado al otro. En el caso que no consigamos armar los pares porque no tienen el mismo volumen se puede realizar el par con otro tubo de hemolisis conteniendo agua destilada. Cabe destacar que la densidad del agua es de 1gr/ml y la de la sangre es 1,06 gr/ml por lo tanto al momento de balancear las muestra hay que tenerlo en cuenta para evitar algún deterioro en los mecanismos de la centrifugadora.

Posterior a la centrifugación se verificó que el proceso haya sido el adecuado y se procedió a la extracción del suero. Una vez extraído el suero se almacenaron las muestras a -12 grados Celsius.

La extracción del suero de los tubos de hemolisis se realizó por trasvasación.



Figura 11. Balanceo de muestras con agua destilada

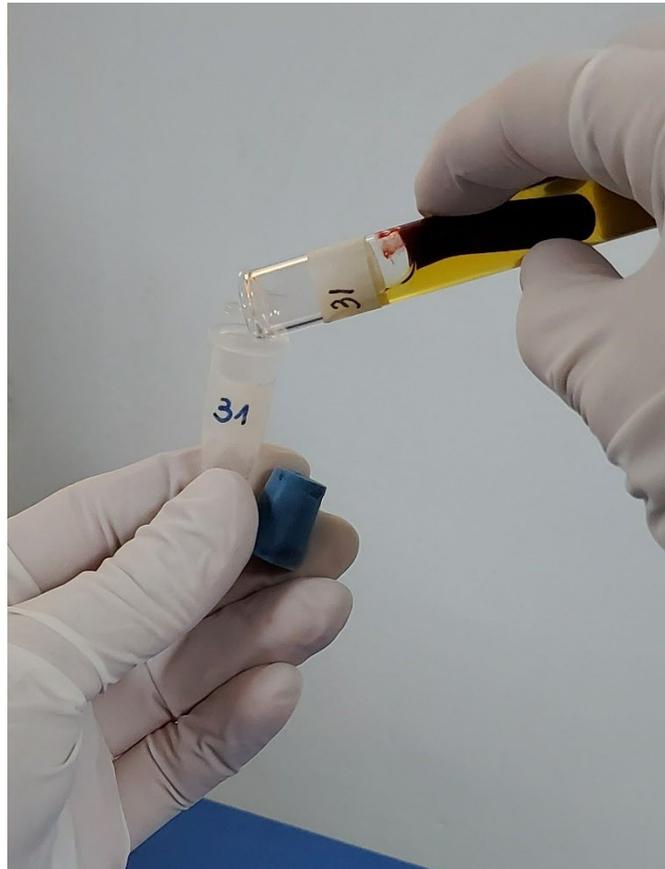


Figura 12. Extracción del suero

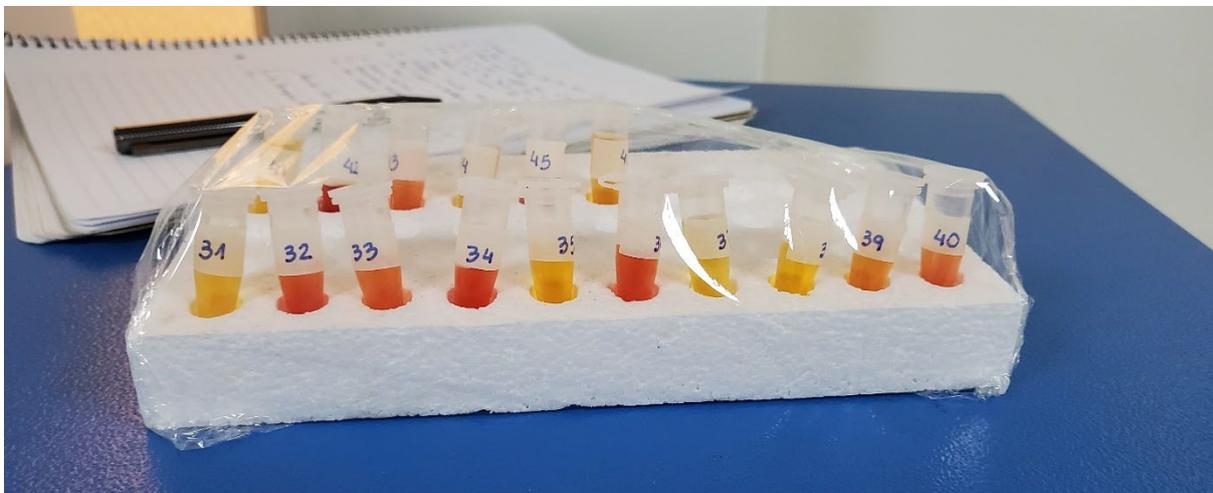


Figura 13. Extracción del suero ya realizada y lista para su almacenamiento.

Test de Elisa Indirecto

Las muestras de suero que se tomaron el día 0 y 60 fueron remitidas al Laboratorio INTA Rafaela Santa Fe. Las muestras obtenidas el día 0 son para detectar la presencia o ausencia de anticuerpos relacionados con los hemoparásitos de la Tristeza Bovina, del

mismo modo las muestras obtenidas después del día 60 son para detectar la presencia o ausencia de anticuerpos compatibles con la hemovacuna.

Resultados

A continuación, en las tablas N° 2 y 3 se muestran el número y porcentaje de bovinos con anticuerpos para *Anaplasma* spp, *Babesia bovis* y *Babesia bigemina* del día 0 y 60 post-vacunación.

El análisis estadístico se realizó con el programa XLSTAT con la prueba de McNemar. El valor alfa para esta prueba fue de 0,05.

Tabla N° 2. Resultados Establecimiento El Espinillo							
Día	N	Anaplasma spp	p. valor	B. bovis	p. valor	B. bigemina	p. valor
0	30	1 (3%)	<0,0001	1 (3%)	<0,0001	0 (0%)	<0,0001
60	30	29 (97%)		30 (100%)		16 (52%)	

Tabla N° 3. Resultados Establecimiento Venancio Luis							
Día	N	Anaplasma spp	p. valor	B. bovis	p. valor	B. bigemina	p. valor
0	16	1 (6%)	0,50	0 (0%)	<0,0001	0 (0%)	0,250
60	16	0 (0%)		16 (100%)		3 (19%)	

Discusión

Al analizar los resultados del día 0 en el establecimiento El Espinillo podemos apreciar que no hay presencia de anticuerpos de *B. bigemina*, pero sí de *B. bovis* y *Anaplasma* spp, aunque esa presencia es mínima siendo respectivamente un 3% para cada una ellas. Por el contrario, en el establecimiento Venancio Luis los anticuerpos para *Anaplasma* spp son de un 6% y en *B. bovis* y *B. bigemina* es del 0%. Unos de los principales motivos en que ambos establecimientos se encuentran es esta situación es debido a que realizan un plan sanitario de erradicación de la garrapata reduciendo así la posibilidad de que los animales estén en contacto natural con los agentes de la Tristeza Bovina debido a la escasa presencia de garrapatas en los pastos. Aunque la mínima presencia de anticuerpos nos da como indicio que dichas enfermedades se encuentran en los establecimientos, pero con una baja incidencia. En la zona donde se encuentran ambos establecimientos se registraron casos de Tristeza Bovina situación que nos ayuda a explicar la presencia de *Anaplasma* en ambos establecimientos ya que este hemoparásito puede ser transportado por diferentes dípteros hematófagos teniendo así un mayor

rango de propagación. Por el contrario, Babesia spp solo se puede transmitir por garrapatas siendo más fácil de predecir su epidemiología.

En cuanto al análisis de los resultados post-vacunación (día 60) para el establecimiento El Espinillo los anticuerpos generados en promedio contra Anaplasma fue 97% ($p < 0,0001$) Babesia bigemina 100% ($p \text{ valor} < 0,0001$) y Babesia bovis 52% ($p \text{ valor} < 0,0001$). Los resultados obtenidos a través de los análisis de laboratorio por medio de la prueba de Elisa para la detección de anticuerpos contra el complejo de Tristeza Bovina indican hay diferencias significativas entre las muestras del día 0 y día 60 para el establecimiento el Espinillo.

Por el contrario, en el caso del establecimiento Venancio Luis los resultados post-vacunación indican que para Anaplasma spp y B. bigemina no hay diferencias significativas entre el día 0 y 60 siendo sus resultados respectivamente 0% para Anaplasma spp ($p \text{ valor } 0,05$) y 19% para B. bigemina ($p \text{ valor } 0,25$). En cambio B. bovis si se encontró una diferencia significativa siendo sus resultados de 100% ($p \text{ valor} < 0,0001$).

Según (Cuoere, 2016) para alcanzar la estabilidad enzoótica se necesita obtener mayor del 75 % de los animales seropositivos contra los tres agentes del complejo de Triste Bovina. En el caso del establecimiento El Espinillo para Anaplasma spp y Babesia bovis se alcanza los niveles establecidos, pero no así para Babesia bigemina por lo tanto el establecimiento se encuentra en inestabilidad enzoótica. En el caso del establecimiento Venancio Luis solo para Babesia bovis se alcanzó la estabilidad enzoótica.

Según (M.V Trabattoni, 2015) si dicho análisis muestra que menos del 75% son animales positivos a cualquiera de los tres agentes, se debe utilizar una segunda dosis para así poder llegar a la estabilidad enzoótica.

A diferencias de otros trabajos realizados con el mismo objetivo de evaluar la respuesta de hemovacunas podemos notar en comparación con Ministerio de Producción de la Provincia de Corrientes en conjunto con el INTA Rafaela quien realizó el análisis de las muestras, al utilizar la vacuna congelada Bió jaja en los resultados post-vacunación, se puede observarse una sólida inmunidad a nivel poblacional (mayor a 75 %) para Anaplasma spp y Babesia spp, es decir, que se logró estabilidad enzoótica. Este estudio se realizó en el año 2014 en la provincia de Corrientes y se aplicaron 129.000 dosis.

Un trabajo realizado por (Rossner y otros, 2016) con la vacuna congelada y extrayendo muestras el día 0 y 60, analizando sus resultados en el INTA Rafaela a igual que este trabajo demuestra que los terneros respondieron a la vacuna con A. marginale y Babesia spp, pero debido a la baja concentración de anticuerpos en algunos animales, no se alcanzó la estabilidad enzoótica para B. bigemina y B. bovis y sí para Anaplasma marginale (Tabla N°4)

Tabla N°4. Resultados obtenidos por Rossmer y otros (2016).

Destete	Anaplasma ssp	B . Bovis	B. Bigemina
2° destete	90%	50%	60%
1° destete	90%	70%	60%

Los resultados obtenidos en el Establecimiento el Espinillo no son los resultados esperados ya que este trabajo buscamos encontrar la estabilidad enzoótica para los tres agentes. Pero en comparación con otros autores se obtuvieron valores semejantes. En dicho establecimiento se procederá a la colocación de una segunda dosis para asegurar los niveles de anticuerpos de B. Bovis y llegar así a la estabilidad enzoótica.

En el Establecimiento Venancio Luis los resultados obtenidos tampoco fueron los esperados ni semejantes a los resultados obtenidos por otros autores. En dicho establecimiento se procederá a realizar una nueva comprobación del análisis de anticuerpo y luego según resultados obtenidos se procederá a una segunda dosis.

Los resultados entre ambos establecimientos han sido dispares. Según Bock Re y de Vos (2001) pueden existir fallas en la vacunación debido a problemas de inmunogenicidad de la vacuna, insuficiente respuesta inmunitaria de los animales o a variaciones en el genotipo de las cepas de campo en relación con las cepas vacinales.

Conclusión

Luego de realizar los procedimientos adecuados para evaluar la respuesta de la hemovacuna y comparar los resultados con otros autores que evaluaron otras hemovacunas, se puede concluir que la misma es una herramienta eficaz para generar anticuerpos contra los agentes de la Tristeza Bovina y debe ser incluida en el calendario sanitario para la protección de bovinos en el sur de la provincia de Corrientes. El uso de la misma debe ser considerado una inversión, dado que se aplica una o dos veces en la vida del animal y lo protegen a lo largo de su vida útil. Además, la utilización de estas vacunas en terneras es beneficiosa, ya que esta categoría va a formar parte del rodeo de vientres. Además, otro dato relevante de este trabajo es la importancia de realizar un adecuado seguimiento y evaluación de la repuesta a la hemovacuna de esta manera podemos determinar la conveniencia de la aplicación de esta herramienta y saber cuáles fueron sus resultados.

Bibliografía

- Bock R, Jackson L, De Vos A, J.W. (2004). *Babesiosis of cattle. Parasitology 129, Suppl:S247–69.*
- Bock RE, & de Vos AJ. (2001). *Immunity following use of Australian tick fever vaccine: a review of the evidence. Aust Vet J 79: 832-839.*
- Bock, R., Wos, A., Kingston, T., Shiels, I., & Dalgliesh, R. (1992). *Investigations of breakdowns in protection provided by living Babesia bovis vaccine 43, 45–56.*
- Bretschneider, G. (08 de Enero de 2008). Tristeza Bovina.
- Callow, L. L. (1984). *Animal health in Australia. Protozoal and rickettsial diseases. Australian Government Publishing Service; V 5: 264p.*
- Cipolini, M.F., Mangold, A. y Jacobo, R.A. (2004). Actualización tristeza bovina, diagnóstico clínico y tratamiento. págs. 1-5.
- Cuoere, U. (2016). Estado de la resistencia a los garrapaticidas en Uruguay. 9p.
- Dalgliesh, R. J. (1993). *Babesiosis. Immunology and Molecular Biology of. Parasite Infections. Oxford, Blackwell. Warren, S. K. pp.352–383.*
- FAO. (2004). *Resistance management and integrated parasite control in ruminants. Guidelines. Animal Production and Health Division.*
- Ing. Zoot. Barbera, P., Ing. Agr. Bendersky, D., Lic. Calvi, M., M.V Cetrá, B., Bioq. Flores, A., M.V. Hug, M., . . . M.V Sarmiento, N. (06 de 2018). Cria vacuna en el NEA. págs. 93-102.
- INTA, Estacion Experimental Agropecuaria Rafaela. (1995). *Relevancia del diagnóstico de la anaplasmosis y la babesiosis en la comercializacion de vacunos inmunizados contra estas enfermedades.* Rafaela.
- Juárez, I. (2018). *Determinación de anticuerpos para complejo tristeza bovina (Babesiosis y Anaplasmosis) en un establecimiento del oeste de la provincia de Formosa.*
- Ley Nacional 12566. Honorable Congreso de la Nación. (1938). Argentina.
- M.V Trabattoni, E. (2015). *Anaplasmosis y Babesiosis en Bovinos Recopilacion Bibliográfica.* Esperanza Santa Fe.

- Mahoney, D. F., & Ross, D. R. (1972). *Epizootiological factors in the control of bovine babesiosis. Australian veterinary journal*, 48(5), 292–298.
- Med. Vet Pertile, C., Med. Vet. Sarmiento, N., Med. Vet Wegrzyn, L., Tec. Cavour, F., Ing. Agr Schiro, F., Ing. Agr Zabala, M., & Med. Vet Lottero, F. (Junio de 2020). Prevención de la tristeza bovina en rodeos de pequeños productores de la provincia de Corrientes.
- Med. Vet Sarmiento, N. (2015). Epimideología y control de la garrapata común bovina. *Boletín informativo N 8 INTA*.
- Med. Vet Sarmiento, N., & Med. Vet. Zimmer, P. (03 de 2010). Causística de la Babesiosis y Anaplasmosis bovina.
- Ministerio de Producción de la provincia de Corrientes. (2014). *Informe de evaluación de inmunoprotección generada por la vacuna contra la tristeza bovina*.
- Resolución 347 SENASA. (2004). Garrapata Bovina Corrientes.
- Resolución N° 165 Ministerio de Producción de la Provincia de Corrientes. (10 de marzo de 2017).
- Resolución N° 382 del Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria. (15 de junio de 2017).
- Rossner; Prieto; Roselló; Vispo; Stahringer. (2016). *Evaluación de vacunación contra el complejo de la tristeza bovina en terneros provenientes del campo*.
- Rubino, M. C. (1946). *Compilación de trabajos científicos*. Ed. Imp. Uruguay, pp. 113- 131.
- Solari, M., Dutra, F., Quintana, S., & Franchi, M. (2013). *Epidemiología y control de hemoparásitos (Babesia y Anaplasma) en Uruguay*. In “*Enfermedades Parasitarias de Importancia Clínica y Productiva en Rumiantes. Fundamentos epidemiológicos para su diagnóstico y control*”. Hemisferio Sur.
- Timms, P. N., & De vos, A. (1990). *Study of virulence and vector transmission of Babesia bovis by use of cloned parasite lines. Infection and Immunity* 58, 2171–2176. *Infection and Immunity* 58, 2171–2176.
- Zimmer, P. A., & Sarmiento, N. F. (12 de 09 de 2016). Impacto económico por brotes de tristeza en rodeos de cría del Noreste.