



Consejo Directivo
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
Universidad Nacional de La Pampa

RESOLUCIÓN Nº 256/2019

GENERAL PICO, 26 de Septiembre de 2019.-

VISTO:

La evaluación positiva enviada por integrantes del Comité Científico de la Facultad de Ciencias Veterinarias, respecto del Proyecto de Investigación: *"Efecto de la vacunación conjuntival (REV-1) contra brucelosis en cabras pre inmunizadas durante el máximo periodo de susceptibilidad a la enfermedad"* y,

CONSIDERANDO:

Que el mencionado Proyecto de Investigación cuenta con la Dirección del Dr. Guillermo MEGLIA y la Co-Dirección a cargo de la Esp. Melina CASTILLO, contando con la participación en carácter de Investigadores del Esp. Dante CERUTTI, el M.V. Marcelo GASTALDO, la Dra. Bettina GÓMEZ, la MSc. Claudia TORTONE y el Ing. Pablo REMIREZ; en carácter de Asesor el M.V. Ezequiel FERNANDEZ (SENASA) y la M.V. Jéscica SÁNCHEZ como Personal de Apoyo y los estudiantes de la carrera de Medicina Veterinaria: Pedro PALERMO, Francisco BELÁUSTEGUI, Candelaria CORTES y Mauricio SPADA, todos pertenecientes a la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Pampa.

Que el mismo tendrá una duración de veinticuatro (24) meses, a partir del 01 de Enero de 2020 y hasta el 31 de Diciembre de 2021.

Que, de acuerdo a la presentación, el citado proyecto es de Investigación Aplicada.

Que participa en su desarrollo el Departamento de Epizootiología y Salud Pública, el Laboratorio de Inmunología (LIVE), el Laboratorio de Microbiología, todos de la Facultad de Ciencias Veterinarias y el Laboratorio Central – SENASA, Martínez, Buenos Aires.

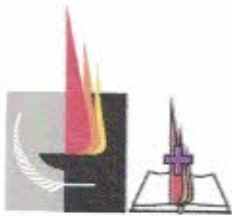
Que el citado proyecto ha sido presentado de acuerdo con las normas vigentes y aprobado por el Comité Científico de la Facultad.

Que el Artículo 5º Anexo I de la Resolución Nº 100/99 y su modificatoria Nº 88/02 del Consejo Superior, estipula que: *"Todo Programa y todo Proyecto de Investigación que obtenga dos (2) evaluaciones externas favorables será acreditado mediante resolución del Consejo Directivo de cada Facultad a la que pertenezca"*.

Que cuenta con dos (2) evaluaciones externas satisfactorias, de acuerdo con lo previsto en la Resolución Nº 100/99 y Nº 88/02 del Consejo Superior de la Universidad Nacional de La Pampa.

Que las evaluaciones fueron realizadas por la Dra. Elida GENTILINI (UBA) y Dra. Silvia MUNDO (UBA).

Que dicho Proyecto cuenta con la aprobación del Formulario del Protocolo Institucional para el Cuidado y Uso de Animales para Experimentación bajo la responsabilidad el Consejo Asesor Institucional para el Uso y Cuidado de Animales de Experimentación (CAICUAE) de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Pampa.



Consejo Directivo
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
Universidad Nacional de La Pampa

Corresponde a Resolución Nº 256/2019

//2.-

Que en Sesión Ordinaria del Consejo Directivo del día 26 de Septiembre de 2019, puesto el Proyecto de Investigación a consideración de los Sres. Consejeros, es aprobado por unanimidad.

POR ELLO:

EL CONSEJO DIRECTIVO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

RESUELVE:

ARTICULO 1º: Acreditar como Proyecto de Investigación de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Pampa, el proyecto denominado: "*Efecto de la vacunación conjuntival (REV-1) contra brucelosis en cabras pre inmunizadas durante el máximo periodo de susceptibilidad a la enfermedad*" dirigido por el Dr. Guillermo MEGLIA y Co-dirigido por la Esp. Melina CASTILLO, contando con la participación en carácter de Investigadores del Esp. Dante CERUTTI, el M.V. Marcelo GASTALDO, la Dra. Bettina GÓMEZ, la MSc. Claudia TORTONE y el Ing. Pablo REMIREZ; en carácter de Asesor el M.V. Ezequiel FERNANDEZ (SENASA) y la M.V. Jéscica SÁNCHEZ como Personal de Apoyo y los estudiantes de la carrera de Medicina Veterinaria: Pedro PALERMO, Francisco BELÁUSTEGUI, Candelaria CORTES y Mauricio SPADA, todos pertenecientes a la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Pampa, el cual tiene doce (12) folios y que se adjunta como Anexo I de la presente Resolución.

ARTICULO 2º: El proyecto tendrá una duración de veinticuatro (24) meses, a partir del 01 de Enero de 2020 y hasta el 31 de Diciembre de 2021.

ARTICULO 3º: Justificar los gastos que se produzcan de pasajes, viáticos, combustibles, aparatos, material de laboratorio, etc., del citado proyecto.

ARTÍCULO 4º: Regístrese, comuníquese, tomen conocimiento los interesados, Secretaría de Investigación, Posgrado y Extensión. Cumplido, archívese.



Dr. Abelardo Mario FERRAN
PRESIDENTE CONSEJO DIRECTIVO
Facultad de Ciencias Veterinarias
UNLPam

TÍTULO del PROYECTO:

Efecto de la vacunación conjuntival (REV-1) contra brucelosis en cabras pre-inmunizadas durante el máximo periodo de susceptibilidad a la enfermedad

Integrantes:

• Megía, Guillermo

• Castillo, Melina

• Cerutti, Dante

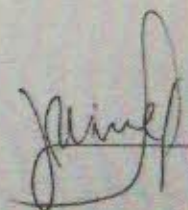
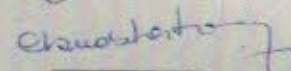
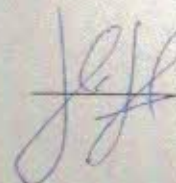
• Gastaldo, Marcelo

• Gomez, Bettina

• Tortone, Claudia

• Ramirez, Pablo

Firma



Scanned by CamScanner

Estudiante

Firma

- Palermo, Pedro Vicente


Palermo Pedro V.

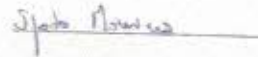
- Belaustegui, Francisco


Belaustegui Francisco

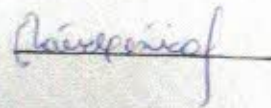
- Cortes, Candelaria


Candelaria

- Spada, Mauricio


Spada Mauricio

- Sánchez, Jéssica


Sánchez Jéssica

Número de Proyecto:

Año:

(No llenar)



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PAMPA

Facultad de Ciencias Veterinarias

1. IDENTIFICACIÓN del PROYECTO**1.1. TÍTULO del PROYECTO:**

Efecto de la vacunación conjuntival (REV-1) contra brucelosis en cabras pre-inmunizadas durante el máximo periodo de susceptibilidad a la enfermedad

1.2. TIPO de INVESTIGACIÓN: Aplicada

1.3. CAMPO de APLICACIÓN PRINCIPAL:

1.4. CAMPOS de APLICACIÓN POSIBLES:

2. INSTITUCIONES y PERSONAL que INTERVIENEN en el PROYECTO**2.1. AREAS, DEPARTAMENTOS y/o INSTITUTOS.**

- Departamento de Epizootiología y Salud Pública, Laboratorio de Inmunología (LIVE), Laboratorio de Microbiología, Facultad de Cs. Veterinarias.
- Laboratorio Central – SENASA, Martínez, Buenos Aires.

2.2. OTRAS INSTITUCIONES:**2.3. EQUIPO de TRABAJO****2.3.1. INTEGRANTES**

Apellido y Nombre	CUIL	Título Académico	Categ. Invest	Responsabilidad (1)	Cátedra o Institución	Cargo y Dedicación	Tiempo dedicac. hs./semana
Meglia, Guillermo Esteban	20-18085849-1	M.V. MSc. PhD.	III	D	Inmunología Esp.	Titular E	15
Castillo, Melina	27-31192900-9	M.V. Esp.	-	CD	Inmunología Esp.	Ay 1° SE	10
Fernández, Ezequiel	20-28544824-8	M.V.	-	A	SENASA	-	3
Cerutti, Dante Alberto	20-20080657-4	M.V. Esp. Mg	V	I	Reproducción	Ay 1°SE	5
Gastaldo, Marcelo Fabián	20-20401442-7	M.V.	IV	I	Inmunología Esp.	Adj SE	5
Gómez, María Bettina	27-21142960-2	M.V. Esp. Dr.	V	I	Biología	Adj E	5
Tortone, Claudia Andrea	27-22569227-6	Microb., MSc.	IV	I	Microbiología	Adj SE	5
Ramírez, Luis Pablo	23-29361341-9	Ingeniero	V	I	Bioestadística	JTP E	3
Sánchez, Jéssica Noelia	27-31192607-7	MV	s.c	Pers Apoyo	Laboratorio	Nodocente	5
Palermo, Pedro Vicente	23-39521630-9	Estud. Adsc	s.c	A.I.	FCV, UNLPam	Estud	12

Beláustegui, Francisco	20-39931388-1	Estudiante	s.c	A.I.	FCV, UNLPam	Estud	5
Cortes, Candelaria Sol	27-38429469-9	Estudiante	s.c	A.I	FCV, UNLPam	Estud	5
Spada, Mauricio Tomás	20-38295532-4	Estudiante	s.c	A.I.	FCV, UNLPam	Estud	5

D: Director, CD: Co-Director, A: Asesor, I: Investigador, AI: Asistente de Investigación.

2.3.1. BECARIOS:

Apellido y Nombre	Organismo que Financia	Tipo de Beca	Director	Tiempo de Dedicac. Hs./Sem.
-------------------	------------------------	--------------	----------	-----------------------------

2.3.2. TESISISTAS:

Apellido y Nombre	Título Académico al que Aspira	Título Proyecto de Tesis	Organismo	Director	Tiempo de Dedicac. Hs./Sem.
-------------------	--------------------------------	--------------------------	-----------	----------	-----------------------------

2.3.3. PERSONAL de APOYO:

Apellido y Nombre	Categoría (Adm., Lab., Campo, etc.)	Tiempo de Dedicación Hs./Sem.
Sánchez, Jéssica	Personal de Laboratorio	5

2.3.4. INVESTIGADORES en PLAN de TESIS:

Apellido y Nombre	Función	Título Proyecto de Tesis	Tiempo de Dedicac. Hs./Sem.
-------------------	---------	--------------------------	-----------------------------

3. DURACIÓN ESTIMADA del PROYECTO: 2 años

3.1. FECHA de INICIO: 01/01/2020 FINALIZACIÓN: 31/12/2021

4. RESUMEN del PROYECTO: (Máximo 200 palabras)

Preponderantemente, la brucelosis caprina esta ocasionada por *Brucella melitensis* y la prevalencia de la enfermedad es elevada en piños de las provincias del noroeste argentino, con serias consecuencias en la producción animal y en la salud pública. El SENASA en conjunto con los gobiernos provinciales, han instaurado un programa de control que contempla la vacunación conjuntival con REV-1, cada 2 años, de todos los caprinos independientemente de la edad y el sexo del animal. No obstante, la vacuna posee la restricción de no aplicarse en hembras gestantes puesto que ocasionalmente induce abortos. Existen evidencias, no corroboradas científicamente, que la revacunación de las hembras gestantes no manifiesta el aborto, en consecuencia, el objetivo del presente trabajo será determinar el efecto de la vacunación conjuntival con REV-1 en hembras caprinas pre-inmunizadas durante el periodo de máxima susceptibilidad a la enfermedad. Para tal fin, se seleccionarán 25 cabras, libres de brucelosis, asignándolas aleatoriamente a uno de los dos grupos: g1, 10 animales y g2, 15 animales. El g1 se vacunará entre los 60 – 90 días de preñadas, mientras que el g2 se vacunará pre-servicio y subsiguientemente, entre los 60 – 90 días de preñadas, período de máxima susceptibilidad. Se tomarán muestras serológicas individuales para determinar cinética de inmunoglobulinas y para cultivo y aislamiento bacteriano al parto o eventualmente en el aborto. Se procura demostrar que la re-inoculación conjuntival en hembras caprinas preñadas no ocasionará abortos o lo hará en una reducida proporción.

Palabras claves: cabras, brucelosis, REV.1, revacunación, Argentina

Abstract

Basically, goat brucellosis is caused by *Brucella melitensis*, and the prevalence of the disease is relatively high in certain provinces of the northwest of Argentina with profound consequences in public and animal health. The National Service of Animal Health (SENASA) in combination with local governments have set up a vaccination program with a conjunctival REV.1 vaccine applying to all animals every two years, even so, the vaccine posse some drawbacks such as abortion when it is applying during the gestational period. Some field evidence, no scientifically probed, shows that the re-vaccination of pre-immunized pregnant goats does not manifest the abortion so that the former will be the aim of the present trial. Thus, 25 brucellosis-free goats are going to be allotted to one of the two following groups, g1, n 10, will be vaccinated between 60 to 90 days of gestation while, g2, n 15, will be vaccinated twice, 30 days pre-mating and during 60 to 90 days of gestation. Individual samples are going to be taken to assess serum immunoglobulin and for isolation and culture of the vaccine strain either at calving or an abortion. It would be expected that conjunctival revaccination in pregnant goats would either not ended-up in abortion or would occur in a reduced proportion.

Keywords: goats, brucellosis, REV.1, revaccination, Argentina

5. INTRODUCCIÓN y ANTECEDENTES**5.1. INTRODUCCIÓN, MANEJO DE FUENTES BIBLIOGRÁFICAS y DESCRIPCIÓN de la SITUACIÓN ACTUAL del PROBLEMA**

La brucelosis es una enfermedad infectocontagiosa crónica, que afecta a una amplia variedad de animales, entre ellos a los rumiantes, ocasionando importantes pérdidas a través del aborto, infertilidad y menor producción láctea (Acha and Szyfres, 2003; Ducrotoy et al., 2016). Asimismo, es considerada como una de las enfermedades bacterianas que más infecciones ocasiona en el ser humano, a través del contacto directo con animales infectados, sus subproductos contaminados o por la manipulación de la materia fecal como fuente de abono (Wallach et al., 1998; Godfroid et al., 2005), causando enfermedades crónicas debilitantes (Pappas et al., 2006). Aproximadamente más de medio millón de personas se infectan anualmente, favorecido por su baja dosis infectiva, solo entre 10 a 100 bacterias y su capacidad de infectar a través de aerosoles (de Figueiredo et al., 2015). Existen varios géneros de *Brucella*, y en su clasificación de acuerdo con la propensión de huésped hallamos: *Brucella canis* (Caninos), *Brucella melitensis* (Ovinos y Caprinos), *Brucella abortus* (Bovinos) entre otras, y más recientemente *Brucella ceti* y *Brucella pinnipedialis* de mamíferos acuáticos. A su vez, y muy relacionado con su patogenicidad, se clasifican en cepas lisas y rugosas asociado a la presencia o no del lipopolisacárido O. No obstante, y a pesar de su propensión de huésped, *Brucella*, como fuere expresado, ha sido asilada de una gran variedad de animales, catalogándola como una especie en evolución continua.

La prevalencia de la enfermedad en Argentina varía, en relación con la especie de rumiante. En bovinos, desde décadas se lleva implementando un programa de control con vacunación sistemática, con la cepa S19, de todas las hembras pre-púberes y eliminación de los reaccionantes adultos positivos. El programa ha demostrado ser muy efectivo, no obstante, aún existe un porcentaje de predios ganaderos infectados relativamente elevado (12,4%) (SENASA, 2014). Descontando las bondades del programa y la eficiencia de la vacuna, mayor énfasis se deberá poner en los controles de vacunación del total del censo bovino y de la efectiva eliminación de los reaccionantes positivos. Por el contrario, la información en Argentina, en referencia a la situación de la enfermedad en rumiantes menores como caprinos y ovinos es más escasa y segmentada. La prevalencia en provincias como La Pampa o Santiago del Estero es nula, inexistente (Meglia et al., 2008; Marcos et al., 2015; Trezeguet et al., 2017), mientras que en las provincias de Cuyo y Formosa, la situación es muy diferente, de alta prevalencia (Robles et al., 2006; Robles et al., 2014; Ruso et al., 2016). La cría de caprinos en Argentina se limita,

básicamente, a regiones áridas, caracterizada como una producción de subsistencia, donde los piños son pequeños, y el nivel sociocultural y económico de los productores es bajo. La problemática de la enfermedad irrumpió bruscamente a mediados de la década del 90 cuando fueron reportados numerosos casos de brucelosis en seres humanos (Mendoza, Catamarca) como consecuencia de la cría de caprinos infectados (Wallach et al., 1994; Wallach et al., 1998). Consecuentemente, el Servicio Nacional de Sanidad Animal (SENASA), junto con organismos nacionales y los gobiernos provinciales comenzaron a instaurar la vacunación sistemática de todos los caprinos, independientemente de la edad, sexo u estado fisiológico (SENASA, 2007a, b). Al seleccionar la cepa REV-1 como inductor de inmunidad y a pesar de ser una vacuna efectiva, es un substrato vivo, y como consecuencia tiene una serie de limitaciones en su uso (Blasco, 1997). Con el objetivo de aumentar la eficiencia de protección y reducir los efectos adversos de la vacunación de todo el piño, se emplea la vacunación conjuntival con una dosis de 2×10^9 UFC en 50 μ l por animal. No obstante, la aparición de efectos adversos en hembras preñadas, como la inducción al aborto entre 5-7 días posteriores a la vacunación no se logra detener, sin embargo, el beneficio que se genera en contener la difusión de la enfermedad y reducir así el número de casos en seres humanos es significativo (Minas et al., 2004). La Organización Mundial para la Sanidad Animal (OIE) en su concepto de "Una Salud", claramente establece que el control de los patógenos zoonóticos en los animales es la medida más efectiva y económica en proteger a las personas. Tal concepto se aplica claramente para la Brucelosis, donde se ha demostrado que la implementación de programas de control y erradicación de la enfermedad en las especies domésticas se difunde en beneficios para la salud pública y la sociedad en su conjunto (Roth et al., 2003; Roth, 2011; Ward et al., 2011). Actualmente, luego de diez años de instaurado el programa, se comienzan a observar progresos, con una considerable reducción de las infecciones en seres humanos, de 3,5 a 0,3 infecciones/año (Infocampo, 2017). Países europeos como Francia y España tienen una vasta experiencia en la utilización de la cepa REV-1 para el control de la enfermedad por *Brucella melitensis* en ovino y caprinos, no obstante, aún nos encontramos carentes de información sobre ciertos aspectos clínicos de la patogenia de la cepa vacunal. Una vez ingresada al huésped, *Brucella* es transportada libre o en el interior de las células fagocíticas, distribuyéndose por toda la economía corporal, en dependencia directa del grado de capacidad de respuesta del sistema inmunitario. Subsiguientemente alcanza órganos tales como bazo, ganglios linfáticos supramamarios, útero, placenta, testículos, epidídimo (Muñoz et al., 2008), empero, demuestra una alta predilección por el eritritol, fuente de carbono para el metabolismo bacteriano, presente en útero grávido de la hembra, ocasionando el aborto (Keppie et al., 1965; Goodwin and Pascual, 2016). A pesar de que la cepa vacunal induce un mínimo número de abortos, su mecanismo aún no está claramente elucidado, puesto que su accionar no es estimulado por la presencia de eritritol (Enright, 1990). En consecuencia, la anamnesis y la velocidad de respuesta del sistema inmunitario del animal contra el agente infectante probablemente jueguen un rol superlativo en la prevención de las manifestaciones clínicas de la enfermedad. A raíz de lo expuesto, y luego de continuas discusiones sobre las ventajas y desventajas de la vacunación general del piño, surgió un nuevo interrogante sobre las consecuencias de la re-inmunización en hembras durante el desarrollo de su segunda preñez. Por consiguiente, el objetivo del presente proyecto es determinar la aparición de efectos adversos, como abortos, luego de la aplicación conjuntival de la cepa vacunal REV-1 en cabras preñadas pre-inmunizadas.

5.2. RESULTADOS ALCANZADOS POR el(los) INTEGRANTE(S) del PROYECTO DENTRO del ÁREA de CONOCIMIENTO del MISMO: (Publicados, enviados o aceptados para publicar, o inéditos)

- Innocuousness and immune response of young bulls vaccinated with S19 either subcutaneously or conjunctival, at the Vetpath 2016 Conference, Abstracts: Pp 20 – 21. Monash University, Prato, Italy. Meglia, GE; Gastaldo, MF; Cerutti, DA; Tortone, C; Sanchez, J; Castillo, M.

- Sheep antibodies survey of smooth and rough strains of Brucella in the north patagonic area of La Pampa. 2008. **Meglia, GE**; Gastaldo, M; Alvarez Rubianes, N; Dubarry, J; Oriani, S; Gomez, B. Ciencia Veterinaria, 10(1): 9 – 11.

5.3. TRABAJOS de INVESTIGACIÓN de los INTEGRANTES del EQUIPO, EN ESTA U OTRA INSTITUCIÓN, RELACIONADOS al PROYECTO:

- Inocuidad y respuesta inmunitaria en machos enteros vacunados con S19 por las vías conjuntival y subcutánea. **Meglia, GE**; Gastaldo, MF; Cerutti, DA; Tortone, C; Sanchez, J; Ramirez, P; Castillo, M. Proyecto de Investigación Orientado (POIRE), 2013. Resolución CS N° 343/2013.

6. DESCRIPCIÓN del PROYECTO

6.1. PROBLEMA CIENTÍFICO, OBJETIVOS, HIPÓTESIS y RESULTADOS ESPERADOS del PROYECTO

6.1.1. Problema Científico: La vacuna REV-1 produce abortos cuando se aplica en ovejas y cabras gestantes con un pico máximo de sensibilidad entre los 60 – 90 días de gestación, que puede llegar al 100% de los casos en su inoculación subcutánea y reducirse a un 60% cuando la vía de aplicación es conjuntival. La cepa vacunal, si bien es atenuada, mantiene un grado de virulencia capaz de producir una infección transitoria, más leve que la cepa patógena de campo, cuando es aplicada en animales no gestantes. Pero cuando el animal vacunado esta en gestación la infección se intensifica en útero y feto, ocasionando abortos. Esto es consecuencia de ciertos factores como: grado de virulencia residual de la cepa, momento de máxima sensibilidad del huésped, dosis y vía de aplicación.

6.1.2. Objetivo:

El objetivo del presente trabajo es demostrar que la re-inoculación conjuntival en hembras caprinas gestantes con la cepa REV-1 contra la brucelosis caprina es inocua o de escasa virulencia.

6.1.3. Hipótesis:

- a. La revacunación de las cabras gestantes no produce abortos.
- b. La revacunación de las cabras gestantes produce abortos en una cantidad significativamente menor al grupo control.

6.1.4. Resultados Esperados:

A través del presente trabajo se procura demostrar que la re-inoculación conjuntival en hembras caprinas preñadas no ocasiona u ocasiona abortos en una reducida cantidad. Consecuentemente, la información generada, contribuirá de sobremanera en las campañas de vacunación sistemáticas que se están llevando a cabo en noroeste argentino, puesto que aportará mayor credibilidad de los productores y agentes sanitarios sobre la inocuidad de dicha práctica, y esclarecerá además la confusión ante los frecuentes abortos de las cabras por otras causas. Luego de la primo-vacunación se genera inmunidad de memoria capaz de contener la bacteriemia inducida como resultado de la re-inoculación, previniendo su llegada a útero y su consecuente aborto. Es necesario remarcar que aún dicha hipótesis no ha sido científicamente corroborada.

6.2. METODOLOGÍA, MODELOS y TÉCNICAS.

- **LUGAR:** El desarrollo experimental se llevará a cabo en la Unidad Didáctica, Experimental y Productiva (UDEP) de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNLPam, con sede en General Pico, La Pampa.

- **INSTALACIONES:** Los animales se emplazarán en un corral, lo suficientemente amplio como para que expresen su comportamiento normal, con comederos, bebedero y con aprovisionamiento de sombra y refugio, para la prevención de las condiciones inclementes del tiempo. Se consta, además, de una manga para la sujeción y separación de los animales.
- **ANIMALES:**
 - **Grupos:** Se seleccionarán 25 cabras vacías, aptas para servicio, provenientes de piños negativos a brucelosis, las cuales serán asignadas a uno de los dos grupos a formarse. El grupo 1 (g1) se constituirá con 10 cabras, las cuales recibirán la dosis vacunal por vía conjuntival entre los 60 – 90 días de preñadas, mientras que el grupo 2 (g2) estará constituido por 15 cabras las cuales recibirán dos dosis de vacuna, 1° vacunación: 20 – 30 días pre-servicio, 2° vacunación entre los 60 – 90 días de preñadas por vía conjuntival. Todos los animales deberán superar satisfactoriamente un control clínico básico. Las cabras serán identificadas con caravana en la oreja derecha y chip en la base de la oreja izquierda.
 - **Castrones:** Se seleccionarán suficiente cantidad de machos enteros, libres de brucelosis, para dar servicio a todas las cabras previamente sincronizadas en 1 y 2 tandas.
 - **Servicios:** Se realizará la sincronización de celo de acuerdo con el protocolo que se detalla a continuación y el servicio controlado con monta a corral. Se repetirán los servicios en las cabras no preñadas en el primer celo. Se registrarán todos los servicios y repeticiones de celo de manera de conocer el estado de gestación y edad fetal durante todo el ensayo. El estado y edad de preñes se corroborará por ecografía transabdominal.
 - **Protocolo de Sincronización:**
 - Día 0: Colocación de la esponja intravaginal con progestágeno (Acetato de medroxiprogesterona 60 mg);
 - Día 9: Aplicación de eCG, PMSG 300-600 UI (NOVORMON 5000®), junto a una dosis de PGF_{2α} o análogo;
 - Día 11: Retiro de la esponja;
 - Día 12-14: Celo y Servicio.
- **VACUNA REV-1:** Se empleará la vacuna REV-1 que se está utilizando actualmente en las campañas de vacunación contra la brucelosis caprina en las provincias de Mendoza, San Juan, La Rioja y Catamarca. La cepa vacunal posee un grado de protección aproximado al 74% contra la infección (Fensterbank et al., 1982; Blasco et al., 1987). La suspensión de la vacuna se ajustará para su aplicación en su dosis máxima de 2×10^9 UFC, contenida en 50 μ l, utilizando la vía conjuntival.
- **VACUNACIÓN:**
 - **Primo vacunación:** se realizará entre 20 – 30 días previos al servicio.
 - **Revacunación:** se realizará durante el periodo gestacional, en el intervalo de tiempo en que las preñeces menores hayan cumplido los 60 días o más de gestación, y las preñeces mayores hayan cumplido los 90 días o menos de gestación. Al momento de la revacunación se corroborará la preñez por diagnóstico ecográfico.
 - **Bioseguridad:** El personal que instilará la dosis vacunal a los animales estará provisto de overol, gafas, guantes y barbijo para su protección. Adicionalmente, como medida preventiva se tomarán muestras séricas, al vacunador, en el inicio y en la finalización del proyecto.
- **SANGRADOS:**
 - Se realizará el sangrado completo de los piños previo al inicio del ensayo, que deberán resultar negativos al diagnóstico de brucelosis.
 - Al comienzo del ensayo y cada 30 días se tomarán muestras sanguíneas de todos los animales hasta el momento de la parición. Las mismas se procesarán con el objetivo final de obtener suero, los cuales serán congelados hasta su procesamiento al final del ensayo.
 - **Determinación de inmunoglobulinas:** Las muestras séricas se analizarán para determinar la presencia de anticuerpos anti-*Brucella* a través de la prueba tamiz cualitativa de Antígeno

Bufferado en Placa (BPA) y la confirmatoria de Polarización Fluorescente (FPA), de la siguiente manera:

✓ **BPA:** 80 µl de suero se mezcla con 30 µl de antígeno y se incuba en cámara húmeda durante 4 minutos a temperatura ambiente, luego se mezcla nuevamente y se incuba otros 4 minutos hasta su lectura según se describe en Bovine Brucellosis, OIE, 2016.

✓ **FPA:** El test emplea O/PS de *Brucella abortus* como antígeno, que se conjuga con un marcador fluorescente. El test será realizado según es descrito por Nielsen *et al.*, 1996.

• **ANÁLISIS ESTADÍSTICO:**

○ Expresamos la posibilidad de ocurrencia de un evento de interés usando probabilidades. Así, el riesgo es la probabilidad de que algo desfavorable ocurra o de que aparezca un hecho adverso tras una actividad determinada. Una forma alternativa de representar la posibilidad de ocurrencia de un evento de interés es mediante el uso de Odds, que se define como un cociente entre el número de "casos" y el número de "no casos". Por lo que se calculará el riesgo relativo (RR) para determinar la efectividad de la revacunación y el Odds Ratio (OR) para medir la efectividad relativa.

Las cabras pareadas por edad se asignarán a cada uno de los dos grupos de manera aleatoria, se revacunarán el g2 y el g1 solo recibirá una vacunación. Finalizada la experimentación se contabilizarán el número de partos satisfactorios para cada grupo como también el número de abortos. Se calculará el riesgo relativo (RR) y el Odds Ratio (OR) para la presencia de aborto con vacunación y revacunación por cada grupo, lo que permitirá hacer una comparación entre los protocolos de vacunación.

• **OBSERVACIONES Y REGISTROS:**

○ Los animales se observarán por personal entrenado, en especial, desde la fecha de vacunación en adelante. Se realizarán, como mínimo, dos observaciones diarias, preferentemente cuatro, a lo largo del día. La observación se dirigirá a los *corrales* para localizar fetos y membranas; y a los *animales* para identificar membranas colgantes, conductas y cualquier otro signo que se considere pertinente. El observador anotará en una planilla la fecha y hora de su recorrida, como los diferentes ítems a registrar: sin novedad, fetos, membranas, estado de los animales, conductas, partos, vitalidad, observaciones.

• **TOMAS DE MUESTRAS BACTERIOLÓGICAS:**

○ Se tomaron muestras de secreciones vaginales al parto o eventualmente al momento del aborto si los hubiere. Cada muestra se procesará para el aislamiento de la cepa vacuna, utilizando medios de cultivo selectivos y siguiendo exactamente el protocolo descrito por Muñoz *et al.*, 2008.

○ Las muestras por tomar, conservar y remitir al laboratorio, relacionadas a los fenómenos de abortos, partos prematuros y partos normales serán: fetos enteros, líquido de cuajo, bazo, hígado, placenta e hisopado vaginal. En cada caso el profesional decidirá, conforme al estado, el material a seleccionar para el diagnóstico bacteriológico.

6.3. CONTRIBUCIÓN al CONOCIMIENTO CIENTÍFICO y/o TECNOLÓGICO y a la RESOLUCIÓN de los PROBLEMAS

○ El riesgo de vacunar a cabras gestantes con el perjuicio de los abortos es real, el cual se presenta solo al inicio del primer año de instauración de una campaña, con la primo-vacunación. No obstante, de demostrarse la hipótesis, ante la re-inoculación durante el periodo de máxima susceptibilidad, se soslayará ciertos reclamos infundados por productores y técnicos sobre la ocasión de abortos y resistencia a la vacunación, generalmente ligada a mala comunicación.

6.4. CRONOGRAMA ANUAL de ACTIVIDADES

Año 2020	Meses											
Actividades	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Adquisición de animales		X	X									
Primo-vacunación		X	X									
1° Sincronización			X									
1° Servicio				X								
2° Sincronización				X								
2° Servicio					X							
Gestación					X	X	X	X	X			
Vacunación en gestación						X	X					
Procesamiento de muestras							X	X	X	X	X	X
Año 2021	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Procesamiento de muestras	X	X	X									
Análisis de Datos				X	X	X	X	X				
Presentación de Resultados							X	X	X	X	X	X
Escritura del Informe Final							X	X	X	X	X	X

7. INFRAESTRUCTURA y PRESUPUESTO**7.1. INFRAESTRUCTURA, EQUIPAMIENTO, SERVICIOS y OTROS BIENES REQUERIDOS por el PROYECTO YA EXISTENTES en esta INSTITUCIÓN**

- Laboratorio de Microbiología, Facultad de Cs Veterinarias, UNLPam.
- Laboratorio de Inmunología, Facultad de Cs Veterinarias, UNLPam.
- Laboratorio Regional de SENASA, General Pico, La Pampa.
- Laboratorio Central de SENASA, Martinez, Buenos Aires.

7.2. INFRAESTRUCTURA, EQUIPAMIENTO, SERVICIOS y OTROS BIENES NECESARIOS para el PROYECTO y NO DISPONIBLES en esta FACULTAD**7.3. JUSTIFICACIÓN de la ADQUISICIÓN o FACTIBILIDAD de ACCESO en CONDICIONES de PRESTAMO o USO de los BIENES NO EXISTENTES en esta INSTITUCIÓN****7.4. ESPECIFICAR otras FUENTES de FINANCIACIÓN:****7.5. PRESUPUESTO ESTIMADO para el PROYECTO PRESENTADO (Total y Anual)**

Bienes de Consumo:	\$21.000,00
Bibliografía:	\$ 2.500,00
Viajes:	\$ 4.500,00
Otros (especifique):	\$ 00,00
Total:	\$ 28.000

* El Consejo Directivo adjudicará presupuesto a cada Proyecto de acuerdo a su Presupuesto de Ciencia y Técnica anual, tomando en cuenta normas y criterios que el mismo determine.

8.1. BIBLIOGRAFÍA

- Acha, NP, and Szyfres, B. 2003. Zoonosis and communicable diseases common to a man and animals. 3rd edition, vol. 1. Pan American Health Organization (PAHO), Washington DC.
- Blasco, JM; Marín, CM; Barberán, M; Moriyón I; Díaz, R. 1987. Immunization with *Brucella melitensis* rev-1 against *Brucella ovis* infections of rams. *Veterinary Microbiology*, 14: 381 – 392.
- Blasco, JM. 1997. A review of the use of *B. melitensis* Rev 1 vaccine in adult sheep and goats. *Preventive Veterinary Medicine*, 31: 275 – 283.
- De Figueiredo, P; Ficht, TA; Rice-Ficht, A; Rossetti, CA; Adams, LG. 2015. Pathogenesis and immunobiology of Brucellosis. Review of *Brucella* – Host interactions. *The American Journal of Pathology*, 185(6): 1505 – 1517.
- Ducrotoy, MJ; Conde-Álvarez, R; Blasco, JM; Moriyón, I. 2016. A review of the basis of the immunological diagnosis of ruminant brucellosis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 171: 81 – 102.
- Enright, FM. 1990. The pathogenesis and pathobiology of *Brucella* infection in domestic animals. In *Animal Brucellosis* (K Nielsen and R Duncan, eds.). CRC Press, Boca Raton, Florida, 301 – 320.
- Fensterbank, R; Non Renseigné; Marly, J. 1982. Efficacy of *Brucella melitensis* Rev.1 vaccine against *Brucella ovis* infection in rams. *Annales de Recherches Vétérinaires*, 13(2): 185 – 190.
- Godfroid, J; Cloeckert, A; Liautard, JP; Kohler, S; Fretin, D; Walravens, K; Garin-Bastuji, B; Letesson, JJ. 2005. From the discover of the Malta fever's agent to the discovery a marine mammal reservoir, brucellosis has continuously been a re-emerging zoonosis. *Veterinary Research*, 36: 313 – 326.
- Goodwin, Z; Pascual, DW. 2016. Brucellosis vaccines for livestock. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 181: 51 – 58.
- INFOCAMPO. <http://www.infocampo.com.ar/se-registro-una-caida-historica-de-los-casos-humanos-de-brucelosis/>
- Marcos, A; Aréjula, C; Cosentino, B; Dubarry, J; Fernández, E; Herpsommer, O; Linares, F; Nicola, A; Sago, A; Trezeguet, MA; Vanderhoeven, M. 2015. Prevalencia de brucellosis caprina en La Pampa, en el año 2013. *SNS*, 7: 1 – 5.
- Keppie, J; Williams, AE; Witt, K; Smith, H. 1965. The role of erythritol in tissue localization of the *Brucellae*. *British Journal of Experimental Pathology*, 46: 106 – 108.
- Meglia, GE; Gastaldo, M; Alvarez Rubianes, NMJ; Dubarry, J; Gomez, B. 2008. Sheep antibodies survey of smooth and rough strains of *Brucella* in the north patagonic area of La Pampa. *Ciencia Veterinaria*, 10(1): 9 – 11.
- Minas, A; Minas, M; Stoumara, A; Tselepidis, S. 2004. The "effects" of Rev-1 vaccination of sheep and goats on human brucellosis in Greece. *Preventive Veterinary Medicine*, 64: 41 – 47.
- Muñoz, PM; de Miguel, JM; Grillo, MJ; Marín, CM; Barberán, M; Blasco, JM. 2008. Immunopathological responses and kinetics of *Brucella melitensis* Rev 1 infection after subcutaneous or conjunctival vaccination in rams. *Vaccine*, 26(21): 2562 – 2569.
- Nielsen, K; Gall, D; Jolley, M; Leishman, G; Balsevicius, S; Smith, P; Nicoletti, P; Thomas, F. 1996. A homogeneous fluorescence polarization assay for detection of antibody to *Brucella abortus*. *Journal of Immunological Methods*, 195(1-2): 161 – 168.
- OIE. 2016. Manual of Diagnostic Tests and vaccines for Terrestrial Animals. Volume 1, Part 2, Section 2.1.; Chapter 2.1.4 Brucellosis.
- Pappas, G; Papadimitriou, P; Akritidis, N; Christou, L; Tsianos, EV. 2006. The new global map of human brucellosis. *Lancet Infectious Diseases*, 6: 91 – 99.
- Robles, CA; Bernard, O; Zenocrati, L; Marcellino, R. 2006. Encuesta serológica sobre Brucellosis en caprinos de la provincia de Mendoza. *Veterinaria Argentina*, volumen XXIV, N° 233: 172 – 185.
- Robles, CA; Gaido, A; Spath, E; Torioni de Echaide, S; Vanzini, V; Zielinsky, G; Aguirre, D; Samartino, L; Rossanigo, C. 2014. *Brucellosis caprina en la Argentina*. First ed. Ediciones INTA. Buenos Aires, Argentina.

- Roth, J.A. 2011. Veterinary vaccines and their importance to animal health and public health. *Procedia in Vaccinology*, 5: 127 – 136.
- Roth, F; Zinsstag, J; Orkhon, D; Chimed-Ochir, G; Hutton, G; Cosivi, O; Carrin, G and Otte, J. 2003. Human health benefits from livestock vaccination for brucellosis: case study. *Bulletin of the World Health Organization*, 81(12): 867 – 876.
- Ruso, A; Mancebo, OA; Mozón, CM; Gait, JJ; Casco, RD y Torioni de Echaide, SM. 2016. Epidemiología de la brucellosis caprina y ovina en la provincia de Formosa, Argentina. *Revista Argentina de Microbiología*, 48(2): 147 – 153.
- SENASA, 2007a. Disposición 1. Plan piloto de vacunación de brucellosis caprina en el distrito Asunción, Departamento de Lavalle, Provincia de Mendoza. Argentina.
- SENASA, 2007b. Disposición 12. Plan de vacunación de brucellosis caprina en la Provincia de San Juan. Argentina.
- SENASA, 2014. Informe del muestreo para determinación de prevalencias de brucellosis bovina en la zona de mayor producción bovina en la República Argentina.
- Trezeguet, MA; Muñoz, GA; Rodríguez, R; Nicola, A; Marcos, A; Elena, S; Franco, C; Lopez, JC. 2017. *Brucella melitensis* en caprinos en Santiago del Estero, República Argentina. *Veterinaria Argentina*, Volumen XXXIV, N° 345.
- Wallach, J; Miguel, SE; Baldi, PC; Guarnera, E; Goldbaum, FA; Fossati, CA. 1994. Urban outbreak of a *Brucella melitensis* infection in an Argentine family: Clinical and diagnostic aspects. *FEMS Immunology and Medical*, 8: 49 – 56.
- Wallach, J; Samartino, L.E; Efron, A; Baldi, P.C. 1998. Human infection by *Brucella melitensis*: an outbreak attributed to contact with infected goats. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 19: 315 – 321.
- Ward, D; Jackson, R; Karomatullo, H; Khakimov, T; Kurbonov, K; Amirbekov, M; Stack, J; El-Idrissi, A; Heuer, C. 2012. Brucellosis control in Tajikistan using Rev-1 vaccine: change in seroprevalence in small ruminants from 2004 to 2009. *Veterinary Record*, 170(4): 100.