

Universidad Nacional de Rosario
Facultad de Ciencias Veterinarias
Carrera de Doctorado en Ciencias Veterinarias

Trabajo de Tesis realizado como requisito para optar al título de

DOCTOR EN CIENCIAS VETERINARIAS

**FACTORES DE RIESGOS ASOCIADOS A LA APARICIÓN DE
ALTERACIONES GANGLIONARES MANDIBULARES EN
BOVINOS Y SU ABORDAJE CLÍNICO.**

Autor del proyecto: Med. Vet. MSc. Alejandro Costa

Directora: Dra. Med. Vet. Mirta Arestegui

Co-director: Dr. Med. Vet. Marcelo Signorini

ÍNDICE GENERAL

Item	Páginas
1 - RESUMEN / PALABRAS CLAVE	1 - 4
2 - INTRODUCCIÓN	5 - 6
3 – MARCO TEÓRICO	7
4 - REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	8 - 16
4 - 1 Etiología de las Afecciones Glandulares Mandibulares	8 - 10
4 - 2 Aspectos patológicos	10 - 12
4 - 3 Aspectos epidemiológicos	13 - 14
4 - 4 Impacto en la salud animal y en la producción de las unidades productivas	15 - 16
5 – Justificación	17
6 - HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	17 - 18
7 - MATERIALES y MÉTODOS	19 – 35
7 - 1 Características generales del área de estudio	19 – 20
7 - 2 Estudio Observacional	20 – 22
7 - 2 - 1 Identificación de variables	23 – 31
7 - 2 - 2 Métodos Estadísticos	32

7 - 3 Métodos clínicos y bacteriológicos	32 – 35
7 - 3 - 1 Etapa A	32 – 33
7 - 3 - 2 Etapa B	34
7 - 3 - 3 Etapa C	34 – 35
8 - RESULTADOS y DISCUSIÓN	36 – 58
8 - 1 Resultados de prevalencia	36
8 - 2 Resultados del análisis bivariado	36 – 39
8 - 3 Resultados del análisis multivariante	40 – 41
8 - 4 Discusión de resultados epidemiológicos del estudio	42 – 46
8 - 5 Resultados y Discusión de la caracterización clínica y agentes involucrados en las presentaciones	47 – 55
8 - 6 Resultados etapa A	47
8 - 7 Discusión etapa A	48 – 49
8 - 8 Resultados etapa B	50
8 - 9 Discusión etapa B	51 – 52
8 - 10 Resultados etapa C	53 - 54
8 - 11 Discusión etapa C	55

9 - DISCUSIÓN GENERAL	56 - 58
10 – CONCLUSIONES	59
11 – BIBLIOGRAFÍA	60 – 69
12 - ANEXOS	72 – 111
12 - 1 Fichas clínicas	73 – 101
12 - 2 Modelo de Ficha Clínica	102 - 104
12 - 3 Protocolo de trabajo de campo. Guías de cuestionario	105 - 108
12 - 4 Notas	109 - 110

ÍNDICE DE TABLAS

N°		Páginas
Tabla 1	Establecimientos muestreados según tipo de explotación ganadera y cantidad de bovinos	22
Tabla 2	Categorías de Balance de Trabajo	28
Tabla 3	Puntos clave para la identificación de la condición corporal	30
Tabla 4	Definición y distribución de las variables independientes incluidas en el análisis de presencia de AGM en bovinos del Departamento Caseros, provincia de Santa Fe	39
Tabla 5	Regresión logística de los factores asociados a la presencia de AGM en bovinos del Departamento Caseros, provincia de Santa Fe	41
Tabla 6	Géneros bacterianos presentes en AGM en bovinos adultos faenados en Frigorífico Swift y decomisados por Actinobacilosis	47
Tabla 7	Frecuencia según estructura anatómica involucrada	50
Tabla 8	Mediana y rango de parámetros sanguíneos estudiados	54

ÍNDICE DE GRÁFICOS

N°		Páginas
Gráfico 1	Determinación de categorías de Balance de Trabajo	29
Gráfico 2	Esquema de relaciones entre variables	46

ÍNDICE DE FIGURAS

N°		Páginas
Figura 1	Departamento Caseros (Provincia de Santa Fe). 2) Distribución de establecimientos de tambo, cría e invernada en la Provincia de Santa Fe	21

Dedico el presente trabajo de tesis a mi familia, mis directores, a todas las personas que de algún modo participaron y a la Facultad de Ciencias Veterinarias UNR.

Y a mis viejos, que siempre están presentes.

FACTORES DE RIESGOS ASOCIADOS A LA APARICIÓN DE ALTERACIONES GANGLIONARES MANDIBULARES EN BOVINOS Y SU ABORDAJE CLÍNICO.

Palabras clave: Actinobacilosis, Bovinos, Clínica Veterinaria, Epidemiología Veterinaria

1 - RESUMEN

Las alteraciones ganglionares mandibulares en bovinos (AGM) son afecciones con base en linfonódulos de cabeza y cuello que son diagnosticadas en el área de estudio como Actinobacilosis, tanto en las unidades productivas pecuarias como en inspecciones sanitarias oficiales en frigorífico. Los aspectos clínicos y epidemiológicos de estas anomalías son escasamente abordados por la bibliografía y se sabe muy poco acerca de los factores que se asocian con las diferentes presentaciones clínicas. El objetivo de la presente tesis fue estimar la prevalencia de AGM en establecimientos bovinos del Departamento Caseros, Provincia de Santa Fe; caracterizar clínicamente las alteraciones ganglionares mandibulares e identificar los factores de riesgo asociados a su presentación. Para ello se realizó un estudio observacional de tipo transversal mediante un muestreo en establecimientos ganaderos y se obtuvo casuística que permitió desarrollar estudios clínicos que se complementaron con trabajos en frigorífico. Se halló una prevalencia de AGM del 1,3 % en unidades productivas de base pastoril. Pudo observarse que las mayores prevalencias se asociaron significativamente o como tendencias a variables relacionadas al manejo de los animales en las unidades productivas. Los establecimientos con Balance de Trabajo negativo, participación ocasional del Médico Veterinario, antigüedad de los empleados menores a dos años y condición corporal de los animales inadecuada, fueron los factores asociados a una mayor prevalencia de AGM. Estos factores implican diferentes situaciones que desfavorecen el bienestar de los animales y podrían vincularse a estrés crónico. Si bien la aproximación epidemiológica debe articularse con la clínica, puede proponerse que la corrección de la expresión de estas variables es necesaria para lograr la reducción de la prevalencia de AGM en el área de estudio.

Se destaca además, el carácter endémico en la presentación de Actinobacilosis y la necesidad de la realización de un mayor número de estudios que den cuenta de posibles tendencias estacionales en cuanto a su forma de presentación y del carácter no esporádico y posiblemente generalizado de esta afección en la región. La detallada descripción de las características

macroscópicas de las lesiones permitió el diagnóstico de Actinobacilosis. Se identificaron distintos géneros bacterianos como *Streptococcus*, *Acinetobacter*, *Corynebacterium* y *Pseudomonas* en lesiones halladas en animales a nivel de frigorífico, que actuarían en forma secundaria al agente causal. Los resultados obtenidos brindan un valioso aporte por la contribución al conocimiento de los aspectos clínicos y epidemiológicos de AGM en el área de estudio dado los escasos datos previos y como estudio inicial para el esclarecimiento de los factores que modulan la expresión de factores de virulencia sobre el agente etiológico y la posibilidad del desarrollo de futuras líneas de investigación para la identificación de perfiles genéticos en bovinos susceptibles o resistentes a la enfermedad.

RISK FACTORS ASSOCIATED TO THE APPEARANCE OF MANDIBULAR GANGLION ALTERATIONS IN CATTLE AND THEIR CLINICAL APPROACH.

Keywords: Actinobacillosis, Cattle, Veterinary Clinics, Veterinary Epidemiology.

ABSTRACT

Mandibular ganglion alterations in cattle (MGA) are conditions based on head and neck lymph nodes diagnosed as Actinobacillosis in livestock production units as well as in official health inspections of slaughterhouses. The clinical and epidemiological aspects of these abnormalities are rarely approached in literature and little is known about the factors associated to their various clinical manifestations. The aims of this thesis were to assess the prevalence of MGA in cattle farms from Caseros District in Santa Fe Province; to clinically characterize the MGA; and to identify the risk factors associated to their manifestation. An observational, cross-sectional study was carried out by sampling livestock farms. Casuistry was obtained allowing the development of clinical studies which were complemented with slaughterhouse studies. A 1.3% prevalence was detected in productive units under grazing systems. The higher prevalence observed was significantly associated or showed tendencies to variables related to animal management in the farms. A higher MGA prevalence was associated to factors such as negative work balance, occasional veterinarian visits, workforce with less than two years' experience and animals with poor body condition in the livestock farms. These factors involve different situations which act against animal welfare and may be linked to chronic stress. Although an epidemiological approach has to be articulated with clinics, it can be suggested that a correction of the expression of these variables is necessary to achieve a decrease in the prevalence of MGA.

This work also raises the discussion about the endemic nature of Actinobacillosis and the need for more studies that account for the possible seasonal tendencies in relation to its form of manifestation and to the non sporadic and possibly widespread nature of this condition in the region. The detailed description of the microscopic characteristics of the lesions allowed for the diagnosis of Actinobacillosis. Different bacterial agents which could act secondary to the etiological agent were identified in lesions found in animals at slaughterhouse. Results provide a valuable contribution to production for the contribution to knowledge of the clinical and

epidemiological of MGA and to literature as an initial study to clarify the factors that modulate the expression of virulence factors on the etiologic agent and the possibility of developing future research lines to identify genetic profiles in cattle susceptible or resistant to this condition.

2 - INTRODUCCIÓN

Las alteraciones ganglionares mandibulares en bovinos (AGM) son afecciones de linfonódulos de cabeza y cuello que, con base en sus características clínicas, son diagnosticadas en Argentina como Actinobacilosis, tanto en las unidades productivas pecuarias como en inspecciones sanitarias oficiales en frigorífico (Costa *et al*, 2002a).

Actinobacilosis es una enfermedad infecciosa, crónica, conocida como una enfermedad de la lengua (Magnano *et al*, 2010a). Es considerada potencialmente zoonótica y de distribución mundial. Afecta tejidos blandos principalmente en cabeza y cuello, produciendo linfadenitis piogranulomatosa, evoluciona generalmente con abscedación de los linfonódulos regionales de cabeza y cuello (Jubb *et al*, 2008a), pudiendo ocurrir también en piel, pulmones o pre estómagos (Margineda *et al*, 2013a; Rycroft *et al*, 2000a).

El ganado vacuno es principalmente afectado, pero puede involucrar a otras especies (Jubb *et al*, 2008) y es considerada de presentación esporádica (Merck, 2007a; Radostits *et al*, 2007; Rycroft *et al*, 2000b, Smith, 2010). Sin embargo, datos de decomisos en frigoríficos a nivel regional y local, sugieren que Actinobacilosis supera las presentaciones esporádicas (Comunicación personal Dr. Pedro Torres - SENASA, 2012; Dubarry *et al* 2004a; Mondadori, 1994 en Da Rosa Curcio *et al*, 2002a; Miranda, 2014a).

A partir de la descripción en Argentina de la Actinobacilosis bovina en 1902 (Lignieres y Spitz, 1902a) se ha generado información sobre el agente causal, aspectos patológicos, diagnóstico y tratamiento. *Actinobacillus lignieresii* es la especie bacteriana aislada de mayor importancia clínica en el bovino (Jones *et al*, 2000a).

El agente etiológico está distribuido en el medio ambiente como saprófito, habiéndose demostrado la presencia de Actinobacillus en compost bovino (Sharma *et al*, 2014a), pero puede colonizar heridas en la piel y convertirse en patógeno (Albornoz *et al*, 2012a).

Los factores de virulencia de *A. lignieresii* permanecen desconocidos y se han hecho pocos progresos para identificar marcadores fiables que permitan su rastreo epidemiológico (Kokotovic *et al*, 2007a). Diferentes cepas están involucradas en la presentación de Actinobacilosis y pueden variar en su capacidad para inducir la enfermedad (Rycroft *et al* 2000b). Además, hay información limitada acerca de la diversidad genética de esta especie en la población natural y sobre los factores que rigen las preferencias ecológicas que estos taxones muestran para superficies mucosas específicas y los hospedadores (Kokotovic *et al*, 2007b).

También, se ha informado la participación de otros agentes infecciosos en la presentación de Actinobacilosis como *Staphylococcus* (60,36 %), *Pseudomonas* (Niederauer Weis *et al*, 1992a) y *Arcanobacterium pyogenes* (Da Rosa Cursio *et al*, 2002b).

Si bien la Actinobacilosis es una enfermedad reconocida desde hace más de un siglo, poco se conoce sobre los factores que se asocian a su presentación. El presente trabajo de tesis abordó la situación epidemiológica y clínica de las alteraciones ganglionares mandibulares, con la intención de aportar información científica que pudiera ser empleada como base para la elaboración de programas de prevención y el control de estas alteraciones.

3 - MARCO TEÓRICO

El marco teórico que orientó el desarrollo de esta investigación tiene su base en distintos campos de conocimiento. La Epidemiología, que se aboca como desafío científico a estudiar el proceso salud-enfermedad en su más amplia conceptualización; la Clínica, disciplina más

importante de la medicina que sigue los pasos de la Semiología que a su vez, presenta un proceso de ordenamiento de los conocimientos a través del método clínico con un objetivo que es el diagnóstico; y la Microbiología que aporta las metodologías apropiadas para poner en evidencia y poder estudiar a los microorganismos.

La epistemología del concepto de “causa” de las enfermedades infecciosas en los últimos años ha cambiado con la evolución de la mono-causalidad al de múltiples factores, por lo que se pasa de un enfoque determinista a uno probabilístico. La búsqueda de la etiología es acompañada por la de los factores de riesgo, bajo la premisa que la sola presencia de un agente infeccioso no es sinónimo de enfermedad.

A su vez, los enfoques Sistémico y Semiótico operaron como nexo para vincular estos campos del conocimiento e inferir la significancia de los signos en contextos específicos en las unidades productivas donde se manifestaron. En esos ámbitos, el estudio del entorno con una visión sistémica facilitó la detección de interacciones entre distintos componentes.

4 - REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

4 - 1 Etiología de las Afecciones Glandulares Mandibulares

En 1902 Lignieres y Spitz, describieron con el nombre de Actinobacilosis a una enfermedad

granulomatosa de los bovinos en Argentina, similar a la Actinomicosis tradicional (Lignieres y Spitz, 1902b). Estos autores aislaron la bacteria responsable y le llamaron *Actinobacille*, siendo ésta la primera referencia mundial de la enfermedad (Merck, 2007 b; Norskov *et al*, 2004a; Merchant Packer, 1980). El trabajo de Lignieres fue confirmado posteriormente por investigadores de varios países (Topley *et al*, 1994).

En 1910, Brumpt (Arenas Guzmán, 2008) propuso colocar a esta bacteria en la clase *Actinobacillus*, con la denominación de *Actinobacillus lignieresii*. Posteriormente, en los 80's se le denominó *Actinobacillus lignieresii* (Vazques Navarrete, 2005). El género *Actinobacillus* incluye 22 especies de las cuales 19 están asociadas con animales (Christensen *et al*, 2004a). El hábitat del género *Actinobacillus* es el tracto respiratorio, gastrointestinal y genital de animales y se han asociado con la infección de tejidos blandos en humanos después de las mordeduras de animales.

Se han realizado extensas revisiones internacionales acerca de la taxonomía y ecología (Bisgaard, 1993a, así como de factores de virulencia, patogénesis e inmunología del género *Actinobacillus* (Del Rio *et al*, 2006; Norskov *et al*, 2004 b; Rycroft, 2000c; Lentsch, 1980a).

Actinobacillus lignieresii es la especie típica del género, ha permanecido relativamente oscuro hasta fechas recientes cuando se ha reconocido el rol de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* en enfermedades periodontales en humanos (Rycroft, 2000d). Filogenéticamente, *Actinobacillus lignieresii* está muy relacionado a *Actinobacillus pleuropneumoniae*, presentando secuencias genéticas comunes y reacciones serológicas cruzadas (Angen *et al*; 2008; Kokotovic, 2007c; Christensen *et al*, 2004b).

Actinobacillus lignieresii es una bacteria gram negativa, de forma bacilar e inmóvil, capaz de crecer en Agar Mac Conkey, produce β -galactosa y fermenta carbohidratos sin producción de gas. Seis variantes serológicas han sido descritas (Nakazawa *et al*, 1979) y anticuerpos aglutinantes han sido puestos en evidencia. No obstante, estos no serían protectores sino asociados con animales convalecientes (Rycroft, 2000d). *Actinobacillus lignieresii* es un comensal de la orofaringe y rumen del ganado bovino, ovino y también ha sido encontrado en la cavidad oral de equinos sanos (Bisgaard, 1993b). Los factores de virulencia aún permanecen desconocidos. Las diferentes cepas pueden variar en su capacidad para inducir la enfermedad y existen evidencias que algunas cepas son más virulentas que otras (Rycroft, 2000e). La mayoría

de los taxones parecen ser específicos de hospedador. Existe un alto grado de diversidad genética entre las cepas aisladas de los caballos infectados y las heridas de los humanos mordidos por los caballos, mientras que un grado de diversidad genética relativamente menor se observó en las cepas de la especie bovina y ovina (Kokotovic *et al*, 2011d). En algunas líneas clonales entre las especies bovina y ovina las cepas parecen ser genéticamente estables a lo largo del tiempo y se pueden encontrar en regiones geográficas muy distantes. Sin embargo, no es evidente la existencia de líneas clonales que estén adaptadas específicamente a los hospedadores ovinos y se necesitan más estudios para aclarar por completo este aspecto (Kokotovic, 2007e).

Como se mencionó anteriormente, las abscedaciones de linfonódulos en bovinos en el área de estudio son diagnosticadas por médicos veterinarios como Actinobacilosis y esto ocurre también a nivel de inspecciones sanitarias en frigoríficos (Costa *et al*, 2011). No obstante, otros agentes bacterianos han sido reportados en casos de alteraciones ganglionares mandibulares en bovinos. Hallazgos en Río Grande de Sur (Brasil) fueron descritos con el nombre de granuloma actinomicoide y es el único antecedente reportado donde estas adenopatías no son nominadas nosológicamente sino con un enfoque anatomopatológico (Niederauer Weis *et al*, 1992b).

Nocardia sp., *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* sp., *Pseudomonas aeruginosa* y *Arcanobacterium pyogenes* fueron aislados a partir de granulomas actinomicoides (Da Rosa Curcio *et al*, 2002c) también en Brasil. *Arcanobacterium pyogenes* en cultivos puros fue aislado de muestras obtenidas de un granuloma submandibular de aspecto similar a lechiguana (enfermedad caracterizada por tumoraciones subcutáneas y causada por *Mannhemia granulomatis*), en un bovino en el Laboratorio Regional de Diagnóstico, Facultad de Veterinaria de la Universidad Federal de Pelotas (Da Rosa Curcio *et al*, 2002d). Infecciones concurrentes con *Actinobacillus lignieresii* y *Mycobacterium farcinogenes* fueron detectadas en ganglios retrofaríngeos, mandibulares y subparotídeos de bovinos en faenados (Sultan Qaboos University, Muscat), (Tageldin *et al*, 1988).

4 - 2 Antecedentes referentes a aspectos patológicos

Injurias erosivas o traumáticas en la mucosa bucal pueden hacer posible la entrada del agente infeccioso. La infección puede ocurrir además por vía aerógena y también de modo iatrogénico

(Rebhun *et al*, 1988). Las bacterias colonizan el tejido conjuntivo de la submucosa oral, allí ocurren repetidos ciclos de replicación bacteriana con reclutamiento de células inflamatorias (Zachary & McGavin 2011, en Andrezza 2013a). La leucocitosis inicial es seguida por la formación de una reacción granulomatosa de células epitelioides y algunas células gigantes en el centro, conformándose un discreto nódulo con exudación focal. El centro de la lesión desarrolla un foco purulento que continúa rodeándose de capas concéntricas de tejido conectivo que terminan conformando una gruesa y fibrosa pared.

Microscópicamente pueden observarse múltiples piogranulomas constituidos por estructuras eosinofílicas en forma de clavos dispuestas radialmente (también llamado “Fenómeno de Splendore-Hoepli”), rodeadas de cantidad variable de neutrófilos, a su vez rodeados por macrófagos epitelioides y ocasionalmente células gigantes multinucleadas. Pueden asociarse periféricamente linfocitos y plasmocitos infiltrados en tejido conectivo neoformado. La población de linfocitos B es proporcionalmente mayor que la de linfocitos T, diferente a lo que ocurre en granulomas tuberculosos, en la que predominan linfocitos T, con dominancia de respuesta inmune celular (Pollock *et al.*, 2001, Beytut 2011 en Andrezza *et al*, 2013b).

Pequeñas cantidades de cocobacilos gram-negativos pueden evidenciarse en el centro de los piogranulomas. Las alteraciones producidas por *Actinobacillus*, *Actinomyces* y por *Staphilococcus* son similares, generando piogranulomas prácticamente imposibles de diferenciar por la coloración de Hematoxilina-Eosina, a no ser por el conocimiento de la localización anatómica (Tessele *et al*, 2014a).

Según algunos autores, la morfología en la reacción de Splendore-Hoepli (agregados proteínaceos e eosinofílicos de inmunoglobulinas) presentaría clavos menores y menos definidas en Actinomicosis (Till y Palmer 1960 en Tessele *et al*, 2014b) pero la distribución de estas reacciones no parece ser una característica confiable para definir el diagnóstico (Tessele *et al*, 2014c).

Factores como interacción entre bacterias y receptores celulares, toxinas, moléculas capsulares antifagocíticas y otros contribuyen a la patogenicidad de *Actinobacillus lignieressi*, pero no están bien comprendidos. Probablemente, los lipopolisacáridos de la pared bacteriana desempeñen un papel importante en la inflamación piogranulomatosa y en la fibroplasia observada (Andrezza *et al*, 2013c).

Las alteraciones actinobacilares afectan tejidos blandos, generando especialmente una linfadenitis que puede evolucionar con abscedación de los linfonódulos regionales. (Schiavon *et al*, 2010a; Jubb, 2008b). El progreso de las lesiones es lento y crónico, localizándose en estructuras linfáticas de cabeza y cuello, siendo menos frecuentes localizaciones en otras regiones (Margineda *et al* 2013b; Magnano *et al*, 2010b). Inicialmente, fueron descritas por Lignieres varias formas de presentación: la Actinobacilosis tegumentaria, ganglionar, lingual, faríngea, glandular y visceral (Lignieress y Sptiz, 1902b). No obstante, la presentación más corriente es la de discretos nódulos que tienden a progresar para formar granulomas densos con ulterior supuración extensa y descarga al exterior (Jubb, 2008c). La lesión más comúnmente observada fue descrita como un absceso frío y superficial (Lignieress y Spitz, 1902c).

La extensión linfógena es corriente siendo frecuentes las evidencias de diseminación (Jubb, 1990a). De este modo, la infección puede diseminarse vía linfática a otros órganos como pulmones, ocasionando fibrosis densa radial de los tabiques (Jubb, 1990b). Lesiones de las paredes de los pre-estómagos pueden ser más frecuentes que lo usualmente diagnosticado (Rycroft *et al*, 2000f).

Se han registrado también una variedad de casos atípicos e inusuales de Actinobacilosis en bovinos (Rebhum, 1999). Un episodio de dermatitis piogranulomatosa y linfadenitis fue diagnosticado en un rodeo de toros en la provincia de Buenos Aires, Argentina, aislándose *Actinobacillus lignieresii* a partir muestras de exudado ganglionar (Margineda *et al*, 2013c).

También en la provincia de Córdoba, Argentina, en un rodeo de bovinos con lesiones clásicas de Actinobacilosis en la cabeza, se describieron seis animales de un total de 850, con lesiones en piel y tejido subcutáneo de los miembros anteriores y posteriores, ganglios linfáticos preescapulares e inguinales superficiales y en la piel de la región escrotal. En los pulmones se encontraron múltiples focos piogranulomatosos. En muestras de ganglios, pulmón y piel, se aisló *Actinobacillus lignieresii*, identificándose también en piel *Staphylococcus* sp. (Magnano *et al*, 2010b).

La gran variación en la cantidad de tejido conectivo fibroso parece estar relacionado con la duración del proceso inflamatorio (Gelberg, 2001 en Tessele *et al* 2014d). En el exudado, que generalmente es espeso y de color amarillento, pueden presentarse microcolonias de bacterias que corresponden a agregados proteináceos, reacciones de Splendore-Hoepli, conformando

pequeños gránulos denominados "gránulos de azufre" o *club shaped cluster*, agrupamientos como mazas o copos (Rycroft *et al*, 2000g). Estos gránulos macroscópicos no son observados de modo constante y no son exclusivos de Actinobacilosis, encontrándose también en Actinomicosis, infecciones por Nocardia (Brown, 2007 en Tessele *et al* 2014e) y también en piogranulomas parasitarios por Oesophagostomun (Tessele *et al* 2014f).

Las características del exudado son muy importantes desde el punto de vista clínico, la presencia de pus amarillento, espeso, brillante, de alta cohesión y baja adhesividad está asociado a nódulos de Actinobacilosis (Jones, 1997 en Tessele, 2014g).

Características macroscópicas permiten diferenciar lesiones por Actinobacilosis y lesiones por Tuberculosis. Los nódulos en Actinobacilosis tienden a sobresalir en el tejido adyacente, un aspecto diferencial al de las lesiones tuberculosas que son planas. Asimismo, el exudado en tuberculosis es un material caseoso, de consistencia arenosa, dada por la mineralización y necrosis, que se adhiere al instrumental al ser cortado, de muy diferente condición al ya descrito para Actinobacilosis (Jones 1997 en Tessele *et al* 2014h).

La afección lingual es sin dudas la característica más distintiva de Actinobacilosis bovina. No obstante, en los reportes de casuística, hay gran variación en la proporción de casos con compromiso lingual. Sobre 18 exámenes anatomopatológicos de archivo del Sector de Patología Veterinaria de la Universidad Federal de Rio Grande do Sul (SPV-UFRGS), el 50 % presentaron lesiones en lengua (Andreazza *et al*, 2013d). No obstante, este índice es considerado excesivo porque otros brotes ocurridos en Brasil describen lesiones predominantemente en linfonódulos (Riet Correa 2007 en Andreazza *et al* 2013e). En la descripción inicial de la enfermedad en Argentina se encontró compromiso lingual en el 5 % de los casos (Lignier y Spitz 1902d).

4 - 3 Antecedentes referentes a aspectos epidemiológicos

Si bien la descripción inicial de Lignieres, quien hace más de 100 años en Argentina observó un brote epizootico de la enfermedad, la Actinobacilosis es considerada esporádica (Merck, 2007b; Radostits, 2002; Rycroft *et al*, 2000h) con presentaciones ocasionales, circunstanciales, de forma irregular y fortuita (Thrusfield, 1990). No obstante, en frigoríficos de Río Grande do Sul (Brasil) se detectaron durante un período de siete años lesiones sugestivas de

Actinobacilosis en 1,15% de los bovinos faenados (Mondadori, 1994, en Da Rosa Curcio *et al*, 2002d).

Asimismo, información sobre decomisos oficiales durante los años 2009, 2010 y 2011 en frigoríficos de bovinos de la provincia de Santa Fe, Argentina, sugiere también la presencia constante de lesiones compatibles con Actinobacilosis. Los porcentajes de decomisos fueron del 1,19%; 1,17% y 1,27% para esos años respectivamente (Comunicación personal Dr. Pedro Torres - SENASA).

En dos frigoríficos de la Provincia de Santa Fe (Exportadores y Consumo Interno) durante 12 semanas comprendidas entre los meses noviembre y diciembre de 2013; enero y febrero de año 2014 se detectaron 1.132 bovinos afectados por Actinobacilosis sobre 37.345 faenados, lo que representó una prevalencia del 3,03% (Canal *et al*, 2015a).

Si bien estas estimaciones adolecen de algunos sesgos ya que depende de la edad y tipo de los animales faenados que pueden no ser representativos de la población ganadera de la región (Latini *et al*, 1997), la misma sugiere que estas anomalías superan la consideración de esporádica. En otras zonas de la región pampeana también existen indicios de estas presentaciones basadas en registros de decomisos de frigoríficos (Dubarry *et al*, 2004b).

El registro de casuística informada para la Cuenca del Salado en la Provincia de Buenos Aires por el Centro Regional Sur del INTA cita que, para el período estival comprendido entre 01/12/07 al 29/02/08, se registraron siete casos de Actinobacilosis sobre 860 bovinos expuestos, lo que significa una incidencia de 0,81 %. Para el período otoñal, comprendido entre 01/03/08 al 31/0/08, se registraron cinco casos, sobre 388 bovinos expuestos, lo que significa una incidencia del 1,5 % (INTA, 2008).

En un estudio de tipo observacional transversal, sobre 350 establecimientos agropecuarios del nordeste de la Provincia de La Pampa, Argentina (Miranda, 2014a), se registró la prevalencia de diferentes enfermedades en rodeos bovinos. Con los productores como informantes, varias enfermedades se consideraron cada una como un grupo (*cluster*). Uno de los *cluster* fue Actinosis que comprendió Actinobacilosis y Actinomicosis. La prevalencia hallada fue del 2,51% y el análisis espacial encontró *clusters* de alto riesgo que fueron estadísticamente significativos, no encontrándose asociación con otros factores de riesgo indagados como tipo de establecimiento, por ejemplo.

Un episodio diagnosticado como "Actinobacilosis Cutánea Enzootica" fue descrito en un establecimiento lechero en Uruguay. Los animales afectados fueron 42 (14,5%) de un total de 290 vaquillonas (Albornoz *et al*, 2012b).

En el área bajo estudio no se han reportado estudios tendientes a dilucidar aspectos epidemiológicos de estas anomalías. De igual forma, las alteraciones ganglionares mandibulares son escasamente abordados por la bibliografía y se sabe muy poco acerca de los factores que se asocian con las diferentes presentaciones clínicas.

4 - 4 Antecedentes referidos al impacto en la salud animal y en la producción

El progreso de las lesiones actinobacilares en bovinos causa un deterioro general del estado de salud de los animales afectados. La signología varía de acuerdo a la localización específica de las abscedaciones. Si bien éstas se corresponden generalmente con estructuras linfáticas de cabeza y cuello pueden registrarse implicancias digestivas y respiratorias tales como disfagia y disnea (Peli *et al*, 2009; Jubb, 2008d). El patrón respiratorio anormal en estos casos se caracteriza por disminución de la frecuencia respiratoria, aumento de la amplitud y es casi constante la presencia de ruidos respiratorios anormales. Casos con estas características

observados en el área de estudio muestran un significativo desmejoramiento en su condición corporal (observación personal). Trastornos autonómicos, derivados de anomalías en las paredes del retículo puede generar indigestión vagal (Blood, 1992).

No se ha encontrado información bibliográfica referente al impacto que estas anomalías pueden presentar en los distintos sistemas de producción bovina, pero las consecuencias se traducen en pérdidas directas de carne o leche, de acuerdo al sistema productivo involucrado. También el precio de venta de los bovinos afectados puede sufrir desvalorización debido a la subsecuente intervención de decomiso en frigorífico.

De todos estos aspectos, existen referencias puntuales obtenidas en el área del estudio, que muestran concretamente relaciones entre estas anomalías con distintas formas productivas (Costa *et al*, 2001; Costa *et al*, 2002b; Costa *et al*, 2003a y Costa *et al*, 2011a). También se añaden costos derivados de la atención médica de los bovinos afectados. Las referencias que se detallan a continuación se obtuvieron durante varios años (2001-2011) a partir del trabajo metódico y enmarcado en el Sistema de Becas de Promoción de Actividades Científicas y Académicas de la Facultad de Ciencias Veterinarias UNR con participación de estudiantes.

Referencias relacionadas con la producción de carne

En una unidad productiva de invernada de base pastoril con suplementación con concentrados (EEA INTA Oliveros) se registró en novillos afectados pérdidas de entre 12 y 28 kg de peso vivo en un período de 43 días. El resto de la tropa (N= 65), en el mismo período registró un aumento promedio de 25,8 kg. de peso vivo. También pudo observarse en muchos casos clínicos que la problemática subsiste luego de efectuado el tratamiento médico habitual. En estos casos, deformaciones sub-mandibulares redondeadas, apreciables por inspección directa, de 10 cm de diámetro, en correspondencia con linfonódulos mandibulares y tejidos blandos adyacentes, de consistencia bien firme, con temperatura y sensibilidad normales subsistieron al tratamiento, manteniéndose hasta el momento de la venta. Los bovinos presentaron similar estado de terminación que el resto de la tropa al ser enviadas a mercado, no obstante, el precio pagado por ellos fue 13,81 % inferior (Costa *et al*, 2011b).

Referencias relacionadas con la desvalorización del ganado bovino

Observaciones anteriores mostraron la incidencia de alteraciones ganglionares mandibulares en el precio de venta de bovinos de distintas categorías afectados y pudo registrarse una reducción del mismo del 26 % comparados con bovinos sanos de igual categoría y estado corporal. Si bien estos porcentajes pueden variar de acuerdo, entre otras cosas, a la situación del mercado ganadero, es razonable entender la desvalorización en el precio debido a la subsecuente intervención de decomiso en frigorífico (Costa *et al*, 2003b). En este sentido, en un trabajo sobre enfermedades zoonóticas y pérdidas económicas detectadas en frigoríficos de Santa Fe, durante 12 semanas, se detectaron decomisos por Actinobacilosis de 4528 kg carne (8,4 % del total decomisado) lo cual representó \$ 72712 (12 % del total de pérdidas en pesos) (Canal *et al*, 2015b).

Referencias relacionadas con la producción de leche e intervalo parto-parto

Siempre en el área de influencia de la Facultad de Ciencias Veterinarias - UNR, se han realizado estudios en tambos, donde se observó una menor producción de leche y mayor intervalo parto - parto (IPP) en el grupo de vacas enfermas. Si bien no se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos para producción de leche e IPP ($p < 0,05$), la mayor variabilidad de la producción de leche se encontró en el grupo de vacas enfermas (rango CV = 22-30) (Costa *et al*, 2002c).

5 - JUSTIFICACIÓN

Aspectos epidemiológicos de estas anomalías son escasamente abordados por la bibliografía y del mismo modo, es acotada la información estrictamente clínica y de agentes que puedan estar vinculados con estas presentaciones en el área de estudio donde la enfermedad está presente. Resulta entonces necesaria una aproximación a la problemática en la que se combinen y profundicen estos aspectos. La información científica generada podrá ser empleada para la mejora de la salud animal.

6 - HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Hipótesis General: Las Alteraciones Ganglionares Mandibulares (AGM) en bovinos representan una anomalía de relevancia local pudiendo aportarse elementos para su prevención a través de la identificación, mediante un abordaje epidemiológico, de factores asociados con su presentación y del reconocimiento de diferencias clínicas y de agentes involucrados.

Objetivo General: Caracterizar clínicamente las Alteraciones Ganglionares Mandibulares en bovinos Departamento Caseros, Provincia de Santa Fe e identificar los factores de riesgo asociados a su presentación.

Hipótesis Específica N° 1: Las AGM son patologías de relevancia en los rodeos existentes en el Departamento Caseros, Provincia de Santa Fe.

Objetivo Específico N° 1: Estimar la prevalencia de AGM en bovinos del Departamento Caseros, Provincia de Santa Fe.

Hipótesis Específica N° 2: Existen factores relacionados con el manejo de los bovinos y propios de los animales que están asociados con la presentación de las AGM en el Departamento Caseros, Provincia de Santa Fe.

Objetivo Específico N° 2: Identificar factores asociados a la presentación de AGM en bovinos del Departamento Caseros, Provincia de Santa Fe.

Hipótesis Específica N° 3: Si bien las presentaciones de AGM son asociadas en el área de estudio a Actinobacilosis, es posible identificar diferencias clínicas y de agentes involucrados.

Objetivo Específico N°3: Caracterizar clínicamente las AGM en el ganado bovino del Departamento Caseros, Provincia de Santa Fe e identificar los agentes involucrados en su presentación.

7 - MATERIALES Y MÉTODOS

7 - 1 Características generales del área de estudio

A los efectos de delimitar espacialmente el trabajo, se propuso realizar las indagaciones en la zona correspondiente a la radicación del estudio: área de influencia de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Rosario, más específicamente el departamento Caseros del sur de la provincia de Santa Fe, con un stock ganadero, al mes de febrero de 2010, de 72.539 bovinos y 674 Renspas, siendo la ciudad de Casilda, sede de la Facultad de Ciencias Veterinarias – UNR y cabecera del departamento. El departamento tiene una extensión de 3.449 km² y limita al norte con los departamentos Belgrano e Iriondo, al este con el departamento San Lorenzo, al sur con los departamentos Constitución y General López y al oeste con la provincia de Córdoba.

No existiendo evidencias ni antecedentes que permitan precisar la prevalencia y distribución de los casos de AGM, se procuró obtener información a partir de unidades productivas de los distintos distritos del departamento. Estos son: Arequito, Arteaga, Beravevú, Bigand, Casilda, Chabás, Chañar Ladeado, Los Molinos, Los Nogales, San José de la Esquina.

Desde el punto de vista fisiográfico, el área se encuentra en la región denominada Pampa Ondulada, que constituye una unidad caracterizada por un relieve suavemente ondulado, recortada por cañadas, arroyos y ríos. El régimen pluvial promedio es de 900 mm anuales con rango entre los 463 mm en el año 2008 a 1163 mm en el año 2006. El suelo presente en el departamento Caseros está conformado por amplias lomas con perfiles intensamente desarrollados, visualizándose también planos bajos y depresiones.

Dentro de los predios en años con abundantes precipitaciones se produce arrastre de suelo superficial (erosión hídrica) con acumulación de rastrojo contra alambrados y alcantarillas y en los bajos. Es pertinente mencionar que aproximadamente 70.000 ha de suelos con capacidad agrícola y con erosión hídrica del departamento perdieron en promedio 6,5 t/ha de suelo superficial en la primavera de 2012 (Problemática de los excesos hídricos para la agricultura en el Sur de Santa Fe, 2014).

Acorde con los objetivos del proyecto, el diseño metodológico del estudio abarcó distintas etapas: un estudio observacional con identificación de factores asociados a la presentación de AGM (7 -2) y métodos clínicos y bacteriológicos (7 – 3).

7 - 2 Estudio observacional

Diseño del estudio

Se realizó un estudio observacional de tipo transversal mediante un muestreo en establecimientos ganaderos del departamento Caseros, provincia de Santa Fe. El muestreo coincidió con la vacunación antiaftosa sistemática de los años 2012 en cada unidad productiva

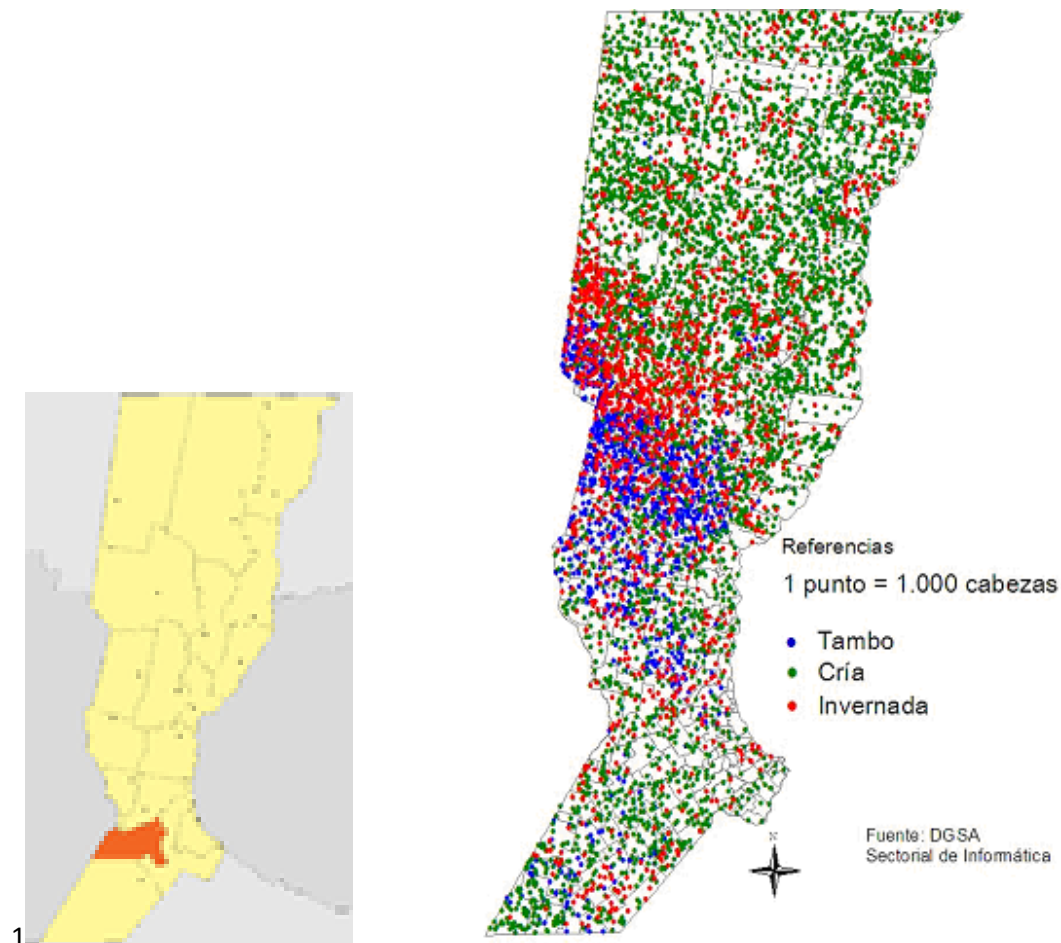
A los efectos de minimizar sesgos, se explicitó al veterinario actuante y al productor el motivo del acompañamiento como "relevamiento sanitario". La obtención de datos se conformó a partir de indagaciones procedentes de fuentes primarias y fuentes secundarias.

En cada uno de los establecimientos se aplicó una encuesta estructurada adjunta en anexos dividida en secciones con características generales del establecimiento y potenciales factores asociados a la presentación de AGM (ej.: tipo de alimentación, recursos forrajeros disponibles, suplementación energética y proteica de las dietas, condición corporal de los animales, entre otros). Estas variables fueron consideradas como "variables independientes" para el desarrollo del presente trabajo. El propósito y la importancia de dicha encuesta fue explicada previamente a los encargados de responderla enfatizando que las respuestas eran anónimas y que el interés de la misma no estaba dirigido hacia ninguna práctica o experiencia en particular sino a la frecuencia de eventos a nivel poblacional.

El cuestionario incluido en el protocolo de trabajo abarcó 10 planillas con parámetros descriptivos de las unidades productivas y preguntas con opciones de respuestas estructuradas (Anexos). Para los aspectos de la dinámica del proceso productivo, manejo y salud de los animales, las preguntas incluyeron opciones de repregunta o ampliación de detalles.

Este cuestionario fue respondido por el Médico Veterinario actuante con participación del productor o encargado en el 48% de los casos, por el productor en el 40 % y por el encargado en el 12 % restante. Los datos se cargaron en una planilla electrónica. Las fuentes secundarias fueron documentación de planillas de vacunaciones del SENASA, donde se obtuvieron las cantidades y categorías etarias de los bovinos e identificación del predio; e información que

surge del Sistema Sanitario Productivo y Participativo de la Secretaría del Sistema Agropecuario, Agroalimentos y Biocombustibles de la Provincia de Santa Fe. Con una estimación de la prevalencia de AGM del 1%, una confianza del 95% y un error estimado del 4% se concluyó muestrear un mínimo de 25 establecimientos totales en el departamento, estratificados de acuerdo a tipo de explotación ganadera y cantidad de bovinos.



2

Figura 1: 1) Departamento Caseros (Provincia de Santa Fe). 2) Distribución de establecimientos de tambo, cría e invernada en la Provincia de Santa Fe (Canal Didier, 2012).

El muestro se amplió finalmente a 27 establecimientos, de los cuales 7 fueron tambos, 13 fueron de cría e invernada y 7 fueron *feed-lot*. De acuerdo a la cantidad de animales por establecimiento 7 tuvieron hasta 50 bovinos, 7 tuvieron de 51 a 100 y 13 más de 100, considerando la proporción de establecimientos en el departamento con esas características

Tabla 1. Establecimientos muestreados según tipo de explotación ganadera y cantidad de bovinos

	Menos de 50 bovinos	De 51 a 100 bovinos	Más de 100 bovinos	Total
Cría e Invernada	6	2	5	13
Tambo	1	3	3	7
Feed-lot	-	2	5	7
Total	7	7	13	27

Las actividades fueron acordadas anteriormente con SENASA Supervisión Santa Fe Sur y con el coordinador de la Asociación Caseros de Sanidad Animal (notas en Anexos).

Las condiciones para realizar el relevamiento fueron el consentimiento del productor y del veterinario actuante, así como también la disponibilidad de los mismos para aportar información sanitaria y productiva del establecimiento. No existieron situaciones de no consentimiento. Las unidades productivas a muestrear fueron seleccionadas por los veterinarios actuantes en las distintas localidades del departamento, de acuerdo al cronograma de vacunación establecido, que se confeccionó de acuerdo a las distintas situaciones de cada uno de los 56 veterinarios acreditados como vacunadores y cada uno de los 674 Renspas del departamento. Esta circunstancia generó un sistema de muestreo, que dada la variedad de situaciones que confluyen en la confección del cronograma de vacunación, minimizó posibles sesgos. Se procuró que todas las localidades del departamento estuvieran representadas en el muestreo.

En cada establecimiento el proceso implicó el encierre en corrales y posterior conducción por brete o manga de todos los bovinos existentes en el rodeo, situación que permitió la inspección, detección y separación de los animales que presentaron alteraciones ganglionares mandibulares.

7 - 2 - 1 Identificación de variables

La variable dependiente del estudio fue la presencia o ausencia de casos de bovinos que presentaron alteración ganglionar mandibular (AGM). Los “casos” de AGM se definieron, para los fines del presente trabajo, como: abscesos y lesiones granulomatosas de ganglios linfáticos mandibulares, subparotídeos, retrofaríngeos y tejidos blandos de cabeza y cuello, con presentaciones que abarcaban casos activos, con aumento de tamaño, registrable por inspección, con o sin presencia de exudados y fistulizaciones. En ocasiones también se sumaron nódulos y abscesos satélites. El exudado producto del proceso pudo ser abundante, espeso, de alta cohesión y de color amarillento. Pudieron evolucionar con permanencia en el tiempo de deformaciones residuales, caracterizadas por alteraciones en forma y tamaño sin signos de inflamación aguda.

Las variables independientes surgieron a partir de la encuesta aplicada a los productores ganaderos visitados. Se suponen diferencias en la prevalencia de AGM según la exposición a distintos factores que operarían como variables independientes, que se detallan a continuación.

Actividad Productiva

La actividad pecuaria en el Departamento Caseros muestra diversidad en cuanto a tipologías productivas, biotipos y categorías bovinas (Gasselin *et al*, 2013; Sistema Sanitario Productivo y Participativo, 2010), que obedece sin dudas a los nuevos paradigmas orientadores del desarrollo de la agricultura y de la ganadería pampeana. Las 27 unidades productivas relevadas se agruparon de acuerdo a tres especializaciones productivas: cría e internada (n= 13), tambo (n= 7) y *feed-lot* (n= 7).

Forma de Pastoreo

Esta variable refirió al sistema de uso o aprovechamiento de las pasturas empleado en cada unidad productiva. Las relaciones entre formas de pastoreo y la salud de los animales han sido ampliamente estudiada en distintas parasitosis bovinas (Soca, 2005; Gutiérrez *et al*, 1974), pero no en los aspectos específicos de este trabajo de tesis. Se relevaron en las unidades estudiadas tres formas diferentes de pastoreo:

- a) Pastoreo Continuo: Se refirió a un sistema extensivo de pastoreo en el cual el animal permanece durante un período prolongado en el mismo potrero. Este sistema es generalmente utilizado en los lotes con pastos naturales en los cuales por su escasa

producción y crecimiento no se justifica la subdivisión de potreros. Por regla general, la capacidad de carga de estos sistemas es relativamente bajo.

- b) Pastoreo Rotativo: Se refirió a un sistema intensivo de manejo de pasturas, en el cual el área de pastoreo se subdivide en cierto número de parcelas y el ganado utiliza los mismos en forma rotacional, aprovechándolos por períodos cortos y permitiéndoles un tiempo adecuado para su recuperación. En el relevamiento efectuado, esta categoría incluyó todos los casos que presentaron "parcelas fijas".
- c) Pastoreo Rotativo con alta carga: En el relevamiento efectuado, esta categoría incluyó todos los casos que presentaron asignación diaria de forraje.

Suplementación Proteica

Los microorganismos del rumen necesitan un adecuado balance nitrógeno - energía para realizar una eficiente digestión ruminal. Se ha sugerido que dietas con un contenido menor a 6 a 8% de proteína bruta, como puede ocurrir en ciertos períodos del año en el pastoreo de campos naturales, serían limitantes para los microorganismos ruminales (Soto *et al*, 2007a) y por lo tanto para la salud y producción de los animales, siendo ésta la razón de la inclusión de esta variable.

En el área de estudio la suplementación proteica no fue uniforme en cuanto a época de utilización y se identificaron las unidades productivas que emplearon concentrados proteicos y aquellas que no utilizaron este insumo.

Suplementación Energética

La gran variación en la disponibilidad de nutrientes que presentan tanto el pastoreo del campo natural como en las praderas implantadas constituye una de las principales limitantes nutricionales que puede afectar la salud y producción bovina (Noro *et al*, 2006a).

La suplementación con concentrados energéticos, es una práctica frecuente en el área de estudio, siendo el grano de maíz, presentado de diferentes formas (entero, molido, grano húmedo) y los alimentos balanceados comerciales las fuentes más utilizadas.

Al igual que en suplementación proteica, su utilización no fue uniforme, pero sí más generalizada en los establecimientos del muestreo, identificándose aquellos que la emplearon y los que no la emplearon.

Suplementación con Heno y Suplementación con Silo

La suplementación con heno o silo, es una estrategia utilizada en el área de estudio para mitigar la baja productividad de las pasturas durante otoño e invierno, que como se sabe es un factor limitante para la producción animal de sistemas pastoriles (Burgues *et al*, 2000).

La inclusión de estas variables es relevante, especialmente en el caso de la suplementación con heno, material que por su característica fibrosa puede ser injuriente para la mucosa oral del bovino y favorecer la presencia de enfermedad (Radostits, 2007a; Jubb, 2008d). Se indagó separadamente acerca de su utilización o no en el plan alimenticio de cada rodeo estudiado.

Proceso del Destete

El destete se definió como el proceso o la acción de separar al ternero de la madre en un momento de la vida del mismo, terminando de esta manera con el suministro de la leche materna. El destete baja los requerimientos nutricionales totales del bovino de 1,4 a 0,7 equivalentes vaca, en forma brusca, situación que permite la recuperación post amamantamiento. El resultado productivo puede ser positivo (Ungerfeld *et al*, 2012), pero por otro lado, si se practica sin tener en cuenta los requerimientos del ternero, puede provocar un estado de subnutrición, caracterizado por menores ganancias de peso y más bajos valores de indicadores nutricionales como proteínas totales, albúminas, urea, triglicéridos, colesterol total, colesterol, lipoproteínas alfa, eritrocitos, hematocrito, hemoglobina, hemoglobina corpuscular media, concentración de hemoglobina corpuscular media, fósforo inorgánico, magnesio, hierro y cobre, con relación a los controles amamantados al pie de madre. Este estado puede afectar la salud y producción de los bovinos (Coppo, 2007a).

Dada la gran diversidad de situaciones presentadas, caracterizamos para el relevamiento efectuado en el área de estudio dos tipos de proceso de destete para el análisis: destete abrupto y destete variable.

- a) Destete Abrupto fue definido como el proceso realizado sin tener en cuenta los requerimientos del ternero. Esta situación se dio en unidades productivas donde

predominó el campo natural como base forrajera y el destete, más que un proceso planificado, se realizó para favorecer el estado corporal de las madres.

- b) Destete Variable fue definido como el proceso de manejo cumplido con atención de los requerimientos del ternero, ya sea en sistemas productivos de carne o leche.

Componente Forrajero

Dadas las características de la patogenia de la Actinobacilosis (Jubb, 2008d; Radostits, 2007b), se obtuvo información sobre la relación entre su prevalencia y los componentes forrajeros de utilización significativa presentes en cada unidad productiva relevada. De este modo, Campo Natural (*Cynodon dactylus*, *Dstichlis spicata*), Pasturas Implantadas (*Medicago sativa*, *Bromas unioloide*, *Festuca arundinacea*) y Rastrojos de Maíz (*Zea maíz*) y Soja (*Glicine max*) fueron identificaron de modo no excluyente como componentes forrajeros.

Participación del Médico Veterinario

La participación del médico veterinario está sujeta a las reglamentaciones del Colegio Profesional correspondiente y del SENASA. Además de las disposiciones de orden nacional, en la provincia de Santa Fe, rige la figura del Corresponsable Sanitario (resoluciones N° 057/04 y N° 060/05), que "es el profesional veterinario habilitado para desarrollar actividades de su incumbencia, como responsable sanitario, conjuntamente con el productor en materia de sanidad animal". Enmarcado en estas normativas la participación del médico veterinario en los establecimientos relevados registró variaciones y se establecieron dos categorías:

- a) Incorporado: cuando el profesional veterinario participaba del manejo del establecimiento, entendiéndose esta situación como la articulación de recursos con el fin productivo, incluyendo obviamente la actividad sanitaria.
- b) Ocasional: cuando el profesional veterinario participaba solo en la actividad sanitaria.

Manejo Sanitario

El esquema sanitario de las unidades productivas mostró en el área de estudio dos categorías:

- a) Básico: Implicó la realización de las acciones sanitarias obligatorias, quedando las situaciones contingentes, vinculadas a urgencias médicas u otras medidas como

vacunaciones no incluidas en planes oficiales (desparasitaciones, tratamientos diversos) a cargo de un profesional distinto al corresponsable sanitario o directamente a cargo del productor o persona idónea.

- b) Programado: Implicó la realización de las acciones sanitarias obligatorias y el resto de medidas relacionadas a la salud y producción del rodeo, por parte del corresponsable sanitario, enmarcado en cierta planificación acordada con el productor.

Las variables participación del médico veterinario y manejo sanitario pueden no relacionarse en forma directa al problema de estudio de este trabajo, pero sí es posible que en un accionar programado exista relación positiva con la salud general del rodeo.

Balance de trabajo

A los efectos de disponer de una variable que refiera a la organización del trabajo con los animales en cada unidad productiva se empleó una adaptación de la metodología denominada Balance de Trabajo o *Bilan Travail* (Dedieu *et al*, 1999).

El Balance de Trabajo es una herramienta para la comprensión de la organización y dinámica del trabajo en explotaciones agropecuarias y tiene el objetivo de integrar la dimensión del trabajo al análisis del funcionamiento de los sistemas productivos.

Se seleccionó como “tarea” a la inspección de los animales, que en terminología pecuaria es la “recorrida”. Esta tarea es relevante porque mediante su correcta realización se verifica el estado general de los animales. Además, no es captada por otras variables relevadas como cantidad de personal o la antigüedad del mismo.

Para la construcción de esta variable se utilizaron los datos obtenidos en Planillas guía de preguntas (Anexos). Para determinar el valor positivo o negativo de esta variable se procedió de la siguiente manera:

Los casos que registraron la limitación explicitada en Tabla 2 (ausencia de personal permanente en el predio), o el indicador resultó mayor o igual a 1 (frecuencia de realización > a una semana), se consideraron negativos (Balance de trabajo negativo).

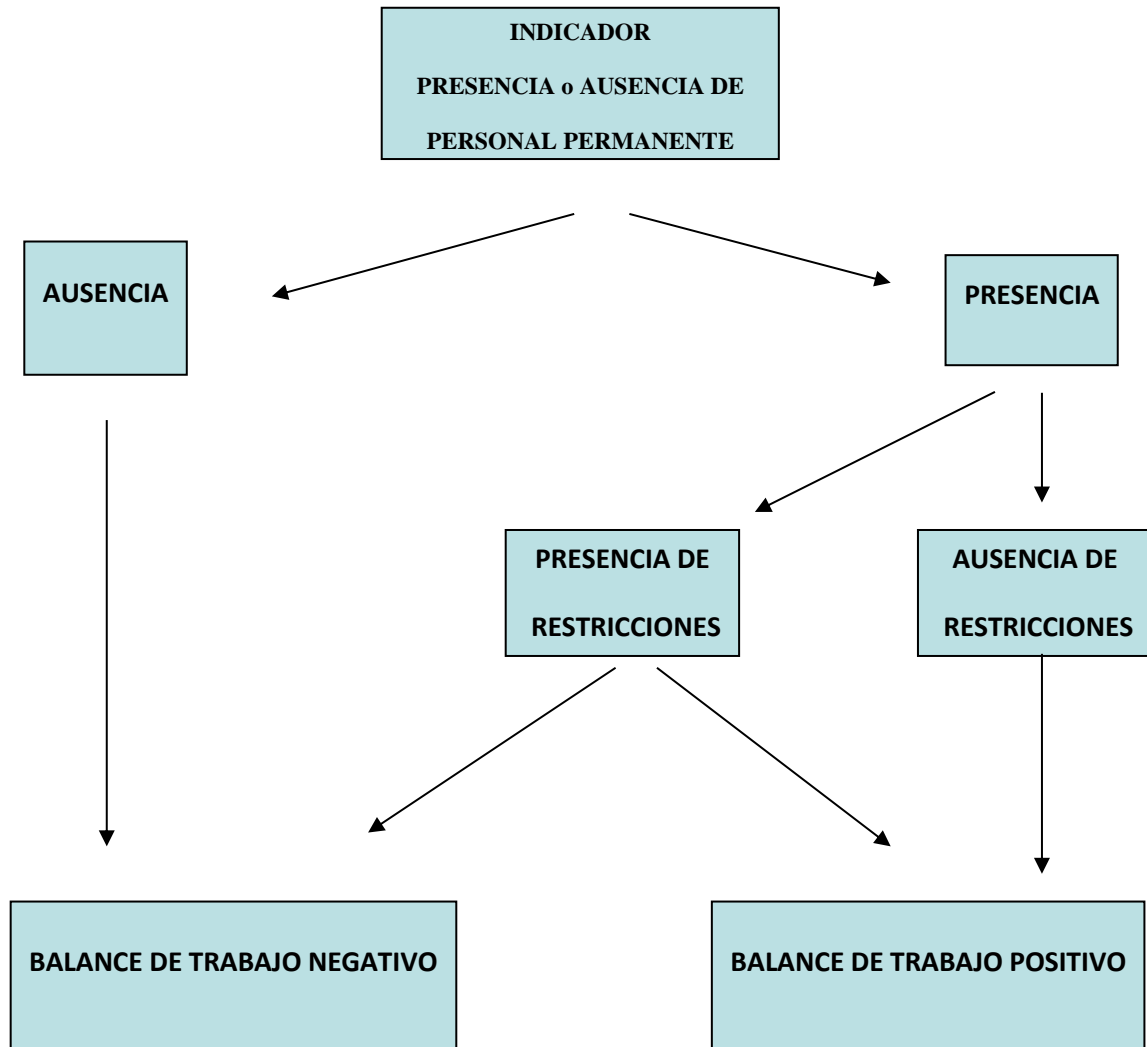
Por el contrario, cuando el indicador frecuencia de realización fue menor a 1, el balance de trabajo fue positivo. Este resultado pudo variar y considerarse negativo cuando se registraron restricciones.

Se consideraron restricciones a las siguientes situaciones: a) dificultades para la implementación del manejo o tratamientos de los animales por escasez de instalaciones, alambrados ausentes o en mal estado, conducción de los animales desde el lote hasta las instalaciones de trabajo dificultada por excesiva distancia o interposición de áreas agrícolas sin alambrar o b) desatención de los animales por resultado económico inadecuado.

Tabla 2. Categorías para variable Balance de Trabajo

Campo	Definición de la tarea	Indicador	Limitaciones	Restricciones	Categoría
	Inspección de los animales.	Frecuencia de realización ≥ 1 semana.	Ausencia de personal en el predio.	Resultado económico inadecuado.	Balance de Trabajo Negativo.
		Frecuencia de realización < 1 semana.		Dificultades en la implementación del manejo ó tratamientos.	Balance de Trabajo Positivo.

Gráfico 1. Determinación del Balance de Trabajo



Condición corporal

La evaluación del estado corporal en bovinos es un método que permite estimar la cantidad de grasa subcutánea y mediante esa estimación puede inferirse el estado nutricional en bovinos (García, 1990). Se realizó la estimación de la condición corporal de los animales mediante la inspección y palpación de determinadas zonas anatómicas. La principal zona evaluada fue la cadera, donde se examinaron: tuberosidades coxales, tuberosidades isquiáticas, base de la cola y fosa isquio-rectal; y luego, la zona lumbar, donde se apreciaron las apófisis espinosas y transversas. Si bien el método es aplicable a vacas, en el presente trabajo de relevamiento se utilizó para todas las categorías bovinas, empleándose una escala de 5 puntos, con puntuaciones intermedias que, para caso particular de acuerdo al momento productivo, se resumió como adecuado o inadecuado. Los puntos clave en la escala de 5 se muestran en tabla 3.

Tabla 3. Puntos clave para la identificación de la condición corporal

Punto	Denominación	Observación clave
1	F- Flaco	Se palpan las rugosidades en tuberosidades coxales
2	R- Regular	Apófisis óseas bien marcadas, pero no se palpan las rugosidades antes mencionadas
3	I- Ideal al parto	Desaparece la fosa isquiorrectal
4	S- Sobre peso	Aparece acumulación grasa a cada lado de la base de la cola
5	O- Obeso	Aparecen acúmulos grasos (polizones) en otras regiones, como pecho o ubre

Categoría animal

Dado que el muestreo se realizó conjuntamente a la vacunación antiaftosa, las categorías consignadas fueron establecidas de acuerdo a las planillas de las actas de vacunación: Vacas, Vaquillonas, Vaquilloncitas, Novillos, Novillitos, Toros, Terneros/as. Estas categorías pudieron agruparse también en Bovinos adultos, que incluyó vacas, novillos y toros; y Bovinos jóvenes, que abarcó vaquilloncitas, novillitos, terneras y terneros.

Biotipo

En los 27 establecimientos relevados se identificaron 7975 bovinos de diferentes razas, cruza y biotipos, que se agruparon en dos grandes categorías: Holstein y Otros. Esta última incluyó cruza de razas europeas.

Cantidad y Antigüedad del Personal

Se clasificó a los establecimientos según la cantidad de personal para el trabajo con el ganado según la existencia de menos de dos y de dos o más personas.

Con respecto a la antigüedad, de acuerdo al artículo 143 del código sustantivo del trabajo, la antigüedad en un puesto de trabajo ha servido para argumentar que a mayor tiempo y experiencia desempeñando un oficio, se logra mayor eficiencia" y puede inferirse mayores conocimientos específicos. Con este criterio, se clasificó a los establecimientos según la antigüedad promedio de sus empleados en menor a dos años y en mayor o igual a dos años.

Para cuantificar el riesgo asociado a la presencia de AGM en los bovinos (presencia/ausencia), se realizó un análisis en dos etapas. Inicialmente, todas las variables (preguntas generales y específicas de la encuesta) fueron comparadas con la variable dependiente (análisis bivariado) empleando T-student, prueba de Mann-Whitney, χ^2 o Test Exacto de Fisher, de acuerdo a las características de la variable independiente. Posteriormente se realizó una regresión logística (análisis multivariante), incluyendo en el modelo aquellas variables que hubieran estado asociadas con la variable dependiente en el análisis bivariado con una significancia (p) inferior a 0,15. El método empleado fue un Modelo Generalizado Lineal Mixto, con los establecimientos como variable aleatoria. La existencia de colinealidad entre las variables independientes fue evaluada mediante el cálculo de la correlación de Spearman (r). Cuando dos potenciales factores de riesgo estuvieron asociados ($r > 0.6$), solamente se incluyó en el análisis multivariante aquella con menor valor de significancia en el análisis bivariado. Todos los análisis estadísticos se realizaron empleando el paquete estadístico InfoStat (Universidad Nacional de Córdoba).

7 - 3 Métodos Clínicos y Bacteriológicos

Con el objetivo de caracterizar clínicamente las AGM e identificar los agentes involucrados en su presentación se procedió metodológicamente de la siguiente manera.

7 - 3 - 1 Etapa A: El objetivo de esta etapa fue identificar los agentes bacterianos involucrados en casos de AGM. Dado que la prevalencia de AGM a campo es baja, se decidió considerar todos aquellos bovinos que en frigorífico presentasen lesiones compatibles con la enfermedad. Se trabajó en la planta del Frigorífico Swift (Rosario, Santa Fe) sobre bovinos procedentes de establecimientos del sur de la provincia de Santa Fe y decomisados por SENASA en playa de faena.

De los casos decomisados por SENASA durante cuatro días de faena se seleccionaron mediante examen físico, los casos activos, que se caracterizaban por un proceso variable pero generalmente prolongado de afectación inflamatoria ganglionar (Tessele *et al*, 2014i; Milne *et al*, 2001), detectándose a la inspección o a la palpación algún signo inflamatorio. Se extrajeron muestras de tejido con bisturí N° 24 estéril, las muestras fueron rotuladas detallando la estructura anatómica afectada y colocadas inmediatamente en recipientes estériles y

transportadas bajo refrigeración al laboratorio del establecimiento faenador dentro de las 6 horas de su extracción.

En el laboratorio se extrajeron muestras por hisopado del interior del tejido en condiciones asépticas y se realizaron siembras del material por extensión en superficie en placas de petri conteniendo agar sangre que se incubaron durante 24/48 horas a 35°C para luego ser colocadas en refrigeración y enviadas al laboratorio Lasa/Idymic (Rosario, Argentina) para la identificación de las colonias resultantes. Allí cada muestra fue procesada según los procedimientos de laboratorio de siembra e identificación bacteriana. Se procedió a la identificación de cada una otorgándose un número de protocolo. Se realizaron tinciones de gram, Zhiell Neelsen y cultivos en medios líquidos y sólidos. El medio líquido utilizado fue thioglicolato y los medios sólidos sembrados en placas de petri se cultivaron en aerofilia, microaerofilia (5% CO₂) y en anaerobiosis. Para los cultivos aerobios y microaerófilos se utilizaron placas de Agar base (Oxoid) adicionadas con 5 % de sangre de carnero y agar chocolate. Los cultivos en anaerobiosis fueron realizados con placas con medio Shaedler – sangre y cultivadas por 96 h en anaerobiosis (sistema Gas Pack). Los cultivos aerobios y microaerófilos se dejaron en estufa a 35 °C (+ - 0,5 °C) por 48 horas. Se realizó una primera observación a las 24 horas a fin de observar contaminaciones y se reincubaron por 48 horas Las placas negativas a las 48 horas se incubaron otras 24 horas (total 72 horas).

La identificación de las muestras se realizó basándose en la morfología de la colonia, morfología del aislamiento y en la utilización de pruebas bioquímicas.

A las colonias sospechosas se les realizó una coloración de gram. Los bacilos o cocobacilos gram negativos pasaron a la etapa de identificación. Se observó la presencia o no de β hemolisis en Agar Sangre de carnero, se realizó la prueba de oxidasa, catalasa, reacción de indol, desarrollo en MacConkey, ureasa, producción de ácido o fermentación de azúcares (Glucosa, Maltosa, Sacarosa, Lactosa, Manitol, Sorbitol, Arabinosa y Rafinosa, todos marca Oxoid) y los requerimientos de Factor V mediante el fenómeno de satelitismo en placa.

Con los resultados se realizaron estadísticas descriptivas y se determinó la asociación entre géneros bacterianos y estructura anatómica involucrada a través de Test Chi-cuadrado.

7 - 3 - 2 Etapa B: Por otra parte, durante el estudio observacional, en cada establecimiento seleccionado (previo consentimiento del responsable), se realizó un examen clínico de rodeo según ficha incluida en anexos.

Mediante la inspección clínica de todos los bovinos se logró identificar todas las AGM que generaron anomalía detectable por este medio físico de exploración. La correcta identificación de los casos pudo lograrse en virtud del encierre en corrales de todos los bovinos de cada establecimiento y su posterior conducción a través de la manga o brete, donde se procedió a la vacunación antiaftosa. Los bovinos detectados fueron apartados y explorados posteriormente con mayor detenimiento.

El examen clínico se realizó de acuerdo a una ficha confeccionada especialmente para el proyecto, basado en las pautas generales de los fundamentos del examen clínico y establecimiento del diagnóstico (Radostits, 2002).

El examen implicó la revisión completa de los bovinos afectados y específicamente en la estructura anatómica afectada se efectuó la descripción de la lesión mediante la aplicación de los métodos físicos de exploración: inspección directa, palpación manual y medición. Esta última se realizó con escrotímetro o se estimó en los casos que no fue posible su aplicación. Esto último sucedió en las deformaciones con más de un linfonódulo afectado. Los aspectos clínicos que facilitaron la sistematización y la realización de estadísticas descriptivas fueron: estructura anatómica afectada, tamaño de la deformación, consistencia y sensibilidad

7 - 3 - 3 Etapa C: Finalizado el estudio observacional se presentaron en el área de estudio nuevos casos de Actinobacilosis en bovinos con características relevantes. Para el estudio de estos nuevos casos, cuya ocurrencia fue proporcionado por los Médicos Veterinarios que estuvieron relacionados con el muestreo, se empleó el mismo protocolo de trabajo.

Se obtuvieron muestras de los casos examinados para su remisión al laboratorio de bacteriología del Hospital FCV-UNR donde se realizaron identificaciones bacteriológicas y exámenes citológicos mediante técnicas de rutina con tinción de May Grunwald Giemsa (Biopur Diagnostics).

Adicionalmente, a través del Laboratorio de Bacteriología de la FCV-UNR se procedió al envío de las muestras de cultivo bacteriológico para genotipificación al centro de referencia: Servicio de Patología Especial INEI-ANLIS del Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas Dr Carlos Malbrán.

Se obtuvieron además muestras de sangre por venopunción yugular para analizar los parámetros sanguíneos: hematocrito, cantidad de glóbulos rojos, concentración de hemoglobina, cantidad de leucocitos, neutrófilos y linfocitos, relación entre neutrófilos y linfocitos, eosinófilos y monocitos. Las muestras fueron extraídas en menos de 60s/animal y analizadas de acuerdo a lo reportado por Shchalm *et al.* (1981). Con el objetivo de obtener referencias locales de los mencionados parámetros se obtuvieron muestras también de animales sanos (sin presencia de AGM) y de características (raza, estado corporal, categoría, sexo) similares a los afectados. Los resultados fueron analizados estadísticamente utilizando el test no paramétrico de Mann-Whitney, empleando el program GraphPadPrism (versión 5).

8 – RESULTADOS y DISCUSIÓN

8 - 1 Estimación de la prevalencia de AGM

Se examinaron 2161 bovinos presentes en 20 unidades productivas de cría, invernada y tambo, encontrándose 29 casos positivos de AGM, resultando una prevalencia del 1,3 %. También se examinaron 5814 bovinos de 7 establecimientos de *feed-lot* encontrándose solo 7 casos positivos, resultando una prevalencia del 0,14 %.

Dado el bajo valor de prevalencia hallado en los establecimientos de *feed-lot* y las características resueltas por sustitución por tejido conectivo (Robin y Cotran, 2010) de los abscesos de los animales positivos, esta categoría no se incluyó en el estudio. Al encontrarse en los *feed-lot* un número muy importante de animales (más del doble que el examinado en el resto de las producciones ganaderas) y con baja prevalencia de AGM, si se incorporarían a los análisis para identificar factores de riesgo para la enfermedad generarían asociaciones espurias y no sería factible identificar verdaderos factores de riesgo al aplicar un modelo de regresión logística. Todos los análisis estadísticos de regresión o correlación están sumamente influenciados por el número de unidades incorporadas al análisis. De esta forma, un número muy elevado de animales y una baja prevalencia de la enfermedad provocarían que la totalidad de las variables independientes resulten estar asociadas estadísticamente con la aparición de AGM, aunque muchas de ellas serían espurias. Esta misma desproporción entre casos de AGM y animales totales incorporados al estudio invalidaría la posibilidad de incorporar todas las variables significativas en un análisis bivariado a un modelo de regresión logística, generando coeficientes de regresión desvirtuados.

8 - 2 Análisis Bivariado

La prevalencia AGM no estuvo influenciada por la actividad productiva del establecimiento ($P=0,737$), la categoría de los animales ($P=0,213$), el componente forrajero a disposición de los animales ($P=0,228$), la realización de encierres nocturnos de los bovinos ($P=0,232$), la suplementación con heno ($P=0,367$) o con silajes ($P=0,367$), ni por el biotipo de los animales presentes en las diferentes explotaciones pecuarias ($P=0,194$) (Tabla 4).

No obstante, la forma de pastoreo estuvo relacionada con la probabilidad de encontrar esta patología. Aquellos establecimientos cuyos animales pastoreaban de manera continua tuvieron

mayores probabilidades de presentar AGM que los establecimientos que practicaban el pastoreo rotativo ($P=0,063$).

Tanto la suplementación energética ($P=0,044$) como la proteica ($P=0,007$) estuvieron asociadas a una reducción en la probabilidad de que los animales padezcan AGM. Otro aspecto destacado fue que, efectivamente la no suplementación energética o proteica predispone a la aparición de AGM. No obstante, el efecto protector fue más evidente cuando los animales fueron suplementados tanto energética como proteicamente y no con un solo suplemento (Tabla 4).

Con respecto a la participación de los Médicos Veterinarios en los establecimientos pecuarios, fue evidente que cuando estos participaban de manera ocasional la prevalencia de AGM en dichos establecimientos fue superior a la observada en las explotaciones en las cuales los Médicos Veterinarios estaban incorporados de manera estable ($P=0,004$). De igual forma, cuando los establecimientos recibieron un manejo sanitario básico la prevalencia de AGM fue superior a la hallada en explotaciones con un manejo sanitario programado ($P=0,047$) (Tabla 4).

Otro aspecto ligado al factor humano fue la cantidad de personal que laboraba en los establecimientos y su antigüedad. Aquellas explotaciones con menos de dos empleados tendieron a tener mayores prevalencias de AGM que aquellos con mayor dotación de personal ($P=0,070$). De igual forma, cuando los trabajadores eran más experimentados (más de 2 años de trabajo) las prevalencias de AGM tendieron a ser menores en comparación con las explotaciones que contaban con empleados de menor antigüedad laboral ($P=0,030$) (Tabla 4). Finalmente, cuando el balance de trabajo fue considerado indispensable, las prevalencias de AGM tendieron a ser significativamente menores en comparación con los establecimientos con balance de trabajo no indispensable ($P<0,001$) (Tabla 4).

En aquellos establecimientos donde el manejo era de tipo cerrado y no había ingreso de animales, la prevalencia de AGM observada fue superior en comparación con establecimientos donde se registraba ingreso de animales ($P=0,066$). Los animales cuyo destete fue realizado de manera abrupta mostraron mayor tendencia a presentar AGM que aquellos animales que fueron sometidos a un destete variable ($P=0,097$). Finalmente, la condición corporal de los animales fue otro factor asociado con la presencia de AGM, dado que las prevalencias tendieron a incrementarse en animales con inadecuada condición corporal ($P=0,122$) (Tabla 4).

De acuerdo al análisis anterior, las variables que fueron ofrecidas al modelo de regresión logística fueron los siguientes: forma de pastoreo, suplementación energética y proteica, cantidad y antigüedad del personal, participación del veterinario, ingreso de hacienda, balance de trabajo, proceso de destete, manejo sanitario de los animales, condición corporal y agrupamiento del rodeo.

Tabla 4: Definición y distribución de las variables independientes incluidas en el análisis de presencia de AGM en bovinos (n= 2161) del Departamento Caseros, provincia de Santa Fe (Año 2012).

Variable	Nivel	Tamaño	Prevalencia (%)	P=
Actividad productiva del establecimiento	Tambo	829	1,4	0,737
	Cría e Invernada	1332	1,3	
Categoría de animales	Adultos	1019	1,7	0,213
	Jóvenes	1142	1,1	
Componentes forrajeros	Campo natural	348	2,3	0,228
	Pasturas	1415	1,2	
	Rastrojos	398	1	
Forma de pastoreo	Continuo	387	2,3	0,063
	Rotativo	1774	1,1	
Encierre nocturno	Si	1662	1,2	0,232
	No	539	1,9	
Suplementación energética	Si	1676	1,1	0,044
	No	485	2,3	
Suplementación protéica	Si	821	0,5	0,007
	No	1340	1,9	
Suplementación	No suplementa	485	2,3	0,016
	Proteína o energía	855	1,6	
	Proteína y energía	821	0,5	
Heno	Si	1711	1,2	0,367
	No	450	1,8	
Silo	Si	999	1,1	0,367
	No	1162	1,5	
Cantidad de personal	<2	1055	1,8	0,07
	>=2	1106	0,9	
Antigüedad personal	<2 años	584	2,2	0,03
	>=2 años	1577	1	
Participación del veterinario	Ocasional	849	2,2	0,004
	Incorporado	1312	0,8	
Ingreso de Hacienda	Si	465	0,4	0,066
	No	1696	1,6	
Balance de trabajo	Indispensable	1260	0,5	<0,001
	No indispensable	901	2,6	
Biotipo	Holstein	589	1,9	0,194
	Otros	1572	1,1	
Agrupamiento del rodeo	Rodeo único	234	3	0,02
	Varios lotes	1927	1,1	
Proceso de destete	Abrupto	1537	1,6	0,097
	Variable	624	0,6	
Manejo sanitario	Básico	1020	1,9	0,047
	Programado	1141	0,9	
Condición corporal	Adecuado	1911	1,2	0,122
	No adecuado	250	2,4	

8 - 3 Análisis Multivariante

De acuerdo al Modelo Generalizado Lineal Mixto, la única variable asociada estadísticamente con la presencia de AGM a un nivel de significancia $<0,05$ fue el balance de trabajo. Aquellos establecimientos con balance de trabajo “no indispensable” tuvieron en promedio 7,306 veces más riesgo (*odds ratio*) de presentar AGM que las explotaciones con balance de trabajo indispensable ($P= 0,048$) (Tabla 5). En aquellas unidades productivas en las que el manejo y tratamiento de los animales enfermos no fue considerado un trabajo indispensable e indiferible (balance de trabajo negativo), la presencia de AGM se asoció con alto nivel de significación.

Otras variables presentaron valores de significancia $<0,1$ y pueden ser considerados como tendencias. En este sentido, aquellos establecimientos cuyos empleados tenían menos experiencia laboral (<2 años) los bovinos presentes en dichas explotaciones tuvieron 4,119 veces más riesgo ($P= 0,092$) de tener AGM en comparación con los bovinos de explotaciones cuyos empleados tenían mayor experiencia en el trabajo. Cuando el Médico Veterinario participaba de manera ocasional en el manejo sanitario de los rodeos, los vacunos por ellos atendidos tuvieron 5,217 veces más riesgo ($P= 0,092$) de presentar AGM que en los casos donde el profesional Veterinario estaba incorporado al trabajo del establecimiento. Finalmente, los bovinos con mala condición corporal tuvieron 5,122 veces más riesgo ($P= 0,071$) de padecer AGM que aquellos con adecuada condición corporal (Tabla 5).

Por último, como puede observarse en Tabla 5, la forma de pastoreo, la suplementación energética y proteica, la cantidad de personal presente en los establecimientos, el ingreso de hacienda a los rodeos, el proceso de destete empleado en cada explotación pecuaria, el manejo sanitario de los animales y el agrupamiento del rodeo, presentaron valores de significación $>0,1$ lo que significa que no mostraron una asociación significativa con la presentación de AGM, aunque pudieran estar ligadas de manera indirecta al influenciar la presentación de alguna de los factores de riesgo o simplemente estar asociados con alguno de dichos factores que resultaron ligados a la presentación de la enfermedad.

Tabla 5: Regresión logística de los factores asociados a la presencia de AGM en bovinos ($n= 2161$) del Departamento Caseros, provincia de Santa Fe. Año 2012.

Variables predictorias	B	DS	P	OR	OR IC 95%
Constante	-0,329	2,12	0,877	-	-
Forma de pastoreo	0,148	0,478	0,757	-	-
Suplementación proteica-energética	-0,498	0,547	0,363	-	-
Cantidad de personal	0,867	0,657	0,187	-	-
Antigüedad del personal	1,416	0,84	0,092	4,119	0,793-21,382
Participación del veterinario	1,652	0,975	0,09	5,217	0,771-35,315
Ingreso de hacienda	0,08	0,625	0,898	-	-
Balance de trabajo	1,989	1,003	0,048	7,306	1,021-52,278
Proceso de destete	0,097	0,537	0,857	-	-
Manejo sanitario	-0,771	0,656	0,24	-	-
Condición corporal	1,634	0,903	0,071	5,122	0,872-30,088
Agrupamiento del rodeo	-0,582	0,541	0,282	-	-

Akaike corregido= 11946,81. Niveles de referencia: Forma de pastoreo= rotativo, Suplementación proteica-energética= no suplementa, Cantidad de persona <2, Antigüedad del personal <2 años, Participación del veterinario= ocasional, Ingreso de hacienda= No, Balance de trabajo= no indispensable, Proceso de destete= abrupto, Manejo Sanitario= Básico, Condición corporal= no adecuada, Agrupamiento del rodeo= 1. DS= desviación estándar; OR= Odds Ratio. IC= Intervalo de confianza.

8 - 4 Discusión de resultados epidemiológicos del estudio

El resultado de prevalencia obtenido es un dato puntual. Dadas las características del estudio, que combina aspectos epidemiológicos y clínicos, es posible discutir a partir de datos anamnésicos obtenidos el carácter esporádico de las alteraciones ganglionares mandibulares en el área de estudio. En todos los establecimientos muestreados se reconoció la afección como persistente y crónica. En la República Argentina la información sobre registros de enfermedades diagnosticadas en bovinos es limitada, abarcando las de denuncia obligatoria y aquellas identificadas durante la inspección *post-mortem* a nivel de frigorífico. En cualquier caso, la información disponible es limitada y contiene importantes sesgos. Sin embargo, existen algunos reportes que hacen referencia a estudios específicos realizados en diferentes regiones del país que refuerzan la idea de la persistencia del problema.

Un estudio de prevalencia desarrollado en un distrito del Departamento San Lorenzo (provincia de Santa Fe), contiguo al área de estudio de la presente tesis, arrojó una prevalencia de 0,66 % (N= 10980) (Costa *et al*, 2001). También, en el noroeste de la provincia de La Pampa, Argentina, se obtuvo una prevalencia de Actinobacilosis y Actinomicosis del 2,51% (Miranda, 2014b). De manera que estudios realizados en diferentes momentos, sobre poblaciones bovinas en lugares distintos, son consistentes con los resultados hallados en la presente tesis sugiriendo la presencia endémica de la enfermedad aunque de baja prevalencia.

El Balance de Trabajo negativo fue la única variable asociada estadísticamente con la presencia de AGM. La construcción de esta variable captó tanto cuestiones de manejo como técnicas y muestra cómo la forma en que el trabajo se organiza puede influir en la salud de los animales y cómo puede explicar (limitaciones y/o restricciones) también la no adopción de tecnologías. Su fuerza explicativa superó la de variables incluso estrictamente biológicas en función que la variable balance de trabajo se relaciona con el manejo de la unidad productiva y es un componente que presenta mayor jerarquía en el sistema. Esto significa que componentes

biológicos del sistema dependen del manejo, entendido como articulación de recursos que con ellos se realice.

Otras tres variables presentaron valores de significancia $<0,1$ y pueden ser considerados como tendencias. Estas fueron: condición corporal inadecuada ($P= 0,071$), participación veterinaria ocasional en el manejo sanitario de los rodeos, ($P= 0,092$) y antigüedad del personal menor a 2 años ($P= 0,092$).

En algunas situaciones se ha estudiado la condición corporal como manifestación del efecto de ciertas enfermedades (Morales, 2012). Pero ese criterio no pude extenderse en nuestro estudio, donde la inadecuada condición corporal estuvo asociada a variables alimenticias y nutricionales que afectaron generalizadamente los bovinos en diferentes establecimientos. Por lo tanto, en nuestro caso, la condición corporal inadecuada puede considerarse preexistente a la enfermedad. La evaluación de la condición corporal es un indicador nutricional. La asociación de indicadores nutricionales con el sistema inmunológico ha sido ampliamente demostrada en medicina humana (Teran Rincon, 2001). Sobre el tema de esta tesis, sin duda que una pobre condición corporal es un desequilibrio contrario al estado de salud en general y es razonable que tratándose Actinobacilosis de una linfadenitis lo sea específicamente.

La condición corporal captó la variabilidad de tipo de pastoreo, ya que el pastoreo continuo implicó una alimentación con base en pasturas naturales y su lógica fluctuación estacional genera gran variación en la disponibilidad de nutrientes, situación relacionada a condición corporal inadecuada.

De un modo similar, el 16,3% de los animales que se destetaron de manera abrupta tuvieron una inadecuada condición corporal, mientras que ninguno de los animales destetados de manera variable presentó una condición corporal inadecuada ($P<0,001$). El destete abrupto dada su

forma de realización, sin tener en cuenta los requerimientos del ternero, puede provocar un estado de subnutrición, caracterizado por menores ganancias de peso y bajos valores de indicadores nutricionales (especificados en identificación de variables) con relación a los terneros amamantados al pie de madre. Este estado puede afectar la salud y producción animal (Coppo, 2007b).

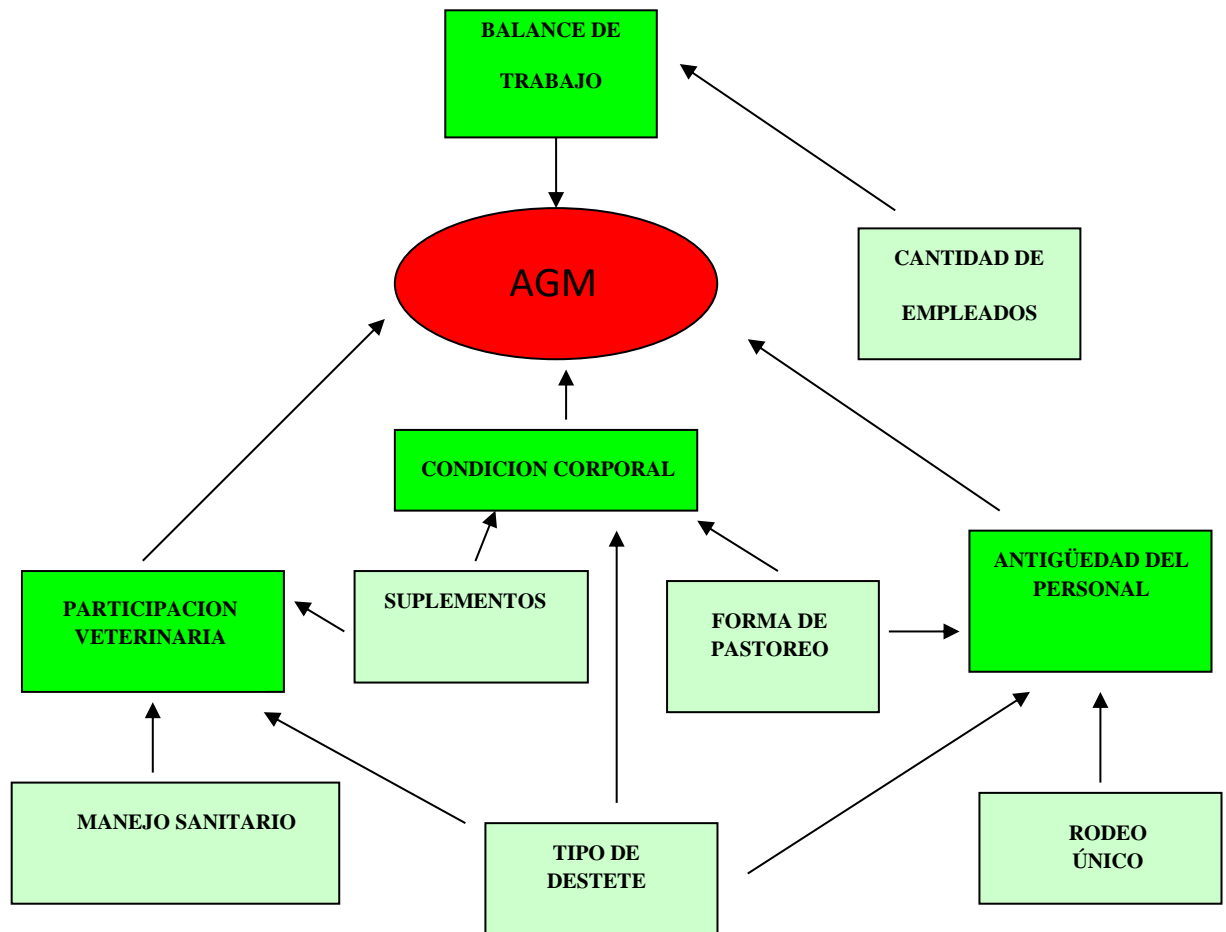
La ausencia de suplementación fue otra variable que, presentándose asociada en el análisis bivariado, no lo estuvo en el multivariante. Al igual que en los casos anteriores (pastoreo continuo y destete abrupto), esta variable presentó una lógica relación con la condición corporal de los bovinos afectados. Cuando los animales no recibieron suplementación proteica, aproximadamente el 19% padeció una inadecuada condición corporal, mientras que todos los animales que recibieron suplementación proteica mostraron una adecuada condición corporal ($P < 0,001$). Como se ha detallado en materiales y métodos, dietas con un contenido menor a 6 a 8% de proteína bruta, como puede ocurrir en ciertos períodos del año en el pastoreo continuo de campos naturales, sumado a la gran variación en la disponibilidad de nutrientes que presentan en esa situación, serían limitantes para los microorganismos ruminales y por lo tanto para la salud de los animales (Noro *et al*, 2006b; Soto *et al*, 2007b).

Los establecimientos que contaron con participación veterinaria limitada a las acciones sanitarias obligatorias (ocasional) mostraron restricciones en la aplicación de aspectos técnicos. Aquellos establecimientos en donde el veterinario participaba de manera ocasional tendieron a no suplementar energética y/o proteicamente a los animales ($P < 0,001$), el manejo sanitario fue esencialmente básico ($P < 0,001$), realizaban mayormente un destete abrupto ($P < 0,001$) y todos realizaban pastoreo continuo ($P < 0,001$). Todas estas variables que estuvieron asociadas a la variable respuesta en el análisis bivariado, resultaron no estar asociadas en el modelo

multivariante. No obstante, estas variables estuvieron condicionadas por la participación del veterinario, variable considerada como factor de riesgo de la aparición de AGM. La actividad del veterinario, cuando se desarrolló de manera incorporada al manejo del establecimiento, incluyendo obviamente la actividad sanitaria, repercutió positivamente registrándose menos casos de Actinobacilosis y seguramente también en otros parámetros de salud que escapan al presente estudio.

La antigüedad de los empleados que trabajaban en las unidades productivas también puede ser considerada una tendencia. La antigüedad en un puesto de trabajo ha servido para argumentar que a mayor tiempo y experiencia desempeñando un oficio, se logra mayor eficiencia (artículo 143 del código sustantivo del trabajo). La antigüedad del personal < a 2 años captó la variabilidad del tipo destete ($P<0,001$) y la forma en la cual pastoreaban los animales ($P<0,001$). Aquellos establecimientos que contaban con personal de poca antigüedad (< a 2 años) tendieron a destetar los terneros de manera abrupta y pastorear de forma continua. Esta relación es lógica en establecimientos con personal de escasa antigüedad y permite discutir sobre la problemática del trabajo rural, donde las oportunidades de capacitación formal son escasas.

Gráfico 2: Esquema de relaciones entre variables



8 - 5 Resultados y Discusión de la caracterización clínica y agentes vinculados a las presentaciones

De acuerdo a la metodología anteriormente detallada, los resultados se muestran en tres etapas

8 - 6 Resultados de la Etapa A

Actinobacillus fue el género aislado con mayor frecuencia en las 91 muestras del frigorífico analizadas, procedentes de establecimientos del sur de la provincia de Santa Fe. Se identificó *Actinobacillus* en 15 bovinos de los 91 analizados (16,5%).

No se encontró asociación entre géneros bacterianos (género *Actinobacillus* y géneros distintos a *Actinobacillus*) y estructura anatómica involucrada (localización en correspondencia a linfonódulos mandibulares y otras localizaciones) ($P>0,05$). Se encontró compromiso inflamatorio en tejido lingual solo en 6 de los 91 casos estudiados (6,59%)

Tabla 6. Géneros bacterianos presentes en AGM en bovinos adultos faenados en Frigorífico Swift y decomisados por Actinobacilosis

Diagnóstico bacteriológico	Cantidad y categoría	%
<i>Actinobacillus</i>	15	16,48
<i>Streptococcus</i>	12	13,18
<i>Acinetobacter</i>	8	8,79
<i>Corynebacterium</i>	4	4,39
<i>Pseudomonas</i>	4	4,39
<i>Estafilococos coagulasa negativos</i>	5	5,49
<i>Bacilos pleomórficos G -</i>	6	6,59
<i>Enterobacterias</i>	11	12,08
<i>Bacilos Gram Positivos ambientales.</i>	10	10,98
<i>Casos Negativos</i>	16	17,58
Total de casos	91	100

8 - 7 Discusión Etapa A

Se observó la presencia de *Actinobacillus* y otros géneros que pueden implicarse en procesos supurativos (Barberis, 2013). Diversos autores han observado que la identificación de *Actinobacillus lignieresii* es compleja, especialmente después de la terapia con antibióticos que usualmente se instaura (Campbell, 1975; Fubini, 1983; Radostits, 2007c), lo que puede explicar los casos negativos

La presencia de *Enterobacterias*, Bacilos ambientales y Bacilos pleomórficos Gram negativos sugieren contaminación proveniente de distintos reservorios y/o contaminación con contenido digestivo debido a la mala atadura del esófago, recto o ruptura de los órganos por mala práctica en el proceso de eviscerado en la planta de faena (Canal *et al*, 2015c; Jones, 1997; Calderón, 1990). La contaminación por bacterias entéricas ha sido ampliamente demostrada en los últimos años mediante la supervisión de los estudios realizados sobre la carne (Forsythe, 2002), (López Vázquez, 2004). Su presencia en este muestreo muestra una problemática, pero la misma no es objetivo de este trabajo de tesis.

Es destacable la presencia de géneros distintos a *Actinobacillus* en un número importante de muestras y abre interrogantes acerca de su rol en la patogenia de estas alteraciones ganglionares y en la persistencia de procesos crónicos y deformaciones residuales que no se resuelven clínicamente.

También se destaca la presencia de otros géneros bacterianos de reciente significación en buiatría y de reconocida resistencia a antimicrobianos, tal es el caso de *Acinetobacter*, detectado en muestras de leche (Zulbey, 1994) y *Estafilococos* coagulasa negativos. En estos últimos, se encontró alta resistencia a antimicrobianos, especialmente para penicilina, no obstante, su significación clínica en bovinos se vincula a mastitis (Boneto, 2014).

La presencia de géneros distintos a *Actinobacillus* como *Pseudomonas*, *Corynebacterium* y *Streptococcus* pueden vincularse a procesos abscedativos en alteraciones ganglionares mandibulares y pueden contribuir a explicar las dificultades en los tratamientos médicos de rutina, entendiendo que varios de ellos son reconocidos por su quimiorresistencia (Barberis *et al.*, 2013). Si bien existen informes que vinculan distintos agentes bacterianos a lesiones granulomatosas similares (Ladeira *et al*, 2010; Da Rosa Curcio *et al*, 2002e), dada la cronicidad y la presencia de fístulas puede proponerse para estos casos, que géneros distintos a *Actinobacillus* actuarían en forma secundaria.

Los resultados de los cultivos muestran la presencia de agentes bacterianos en las lesiones, pero no suponen etiología en todos los casos. Esta condición podría quedar reservada en estos casos, de modo presuntivo, a *Actinobacillus lignieressi*, debido a la especificidad de las lesiones que acompañan (Teselle *et al*, 2014j).

8 - 8 Resultados Etapa B

Los resultados de esta etapa muestran una aproximación descriptiva de los 29 casos de AGM encontrados durante el estudio observacional. Se realizó una sistematización descriptiva de las presentaciones clínicas según estructura anatómica involucrada (Tabla 7). También se registraron cambios a la palpación, tamaño de la deformación y presencia de drenaje o fistulizaciones. Se completaron las fichas clínicas, adjuntas en anexos con registro fotográfico de cada caso

Tabla 7. Tabla de frecuencia según estructura anatómica involucrada

	Frecuencia	Porcentaje (%)	Porcentaje acumulado
Linfonódulos Mandibulares Izquierdo	10	34,5	34,5
Linfonódulos Mandibular Derecho	5	17,2	51,7
Linfonódulos Subparotideo Izquierdo	4	13,8	65,5
Linfonódulos Subparotideo Derecho	2	6,9	72,4
Abscedaciones múltiples	2	6,9	79,3
Abscedaciones Glándula Mandibular	6	20,7	100
Total	29	100	

En Tabla 7 se muestra la mayoritaria frecuencia de aparición en linfonódulos mandibulares. En los casos obtenidos en el estudio observacional no se encontró afectación lingual.

En el 83 % de los casos se encontró aumento en la consistencia del tejido afectado, en el 14 % este aumento en la consistencia fue acompañado por aumento de la sensibilidad o temperatura local y solo en el 3 % de los casos se registró solamente aumento de la temperatura local. En el 10 % de los casos se encontraron evidencias de exudados y fistulizaciones en las lesiones abscedativas. Estos datos reflejan las características propias de la evolución de los procesos inflamatorios crónicos o resueltos encontrados en los linfonódulos regionales (Schiavon et al, 2010b; Jubb, 2008e).

8 - 9 Discusión Etapa B

Los resultados muestran un fuerte predominio de la localización en linfonódulos mandibulares y tejidos blandos adyacentes y esto se corresponde con la amplia región anatómica de drenaje linfático, que abarca el espacio intermandibular, cavidad bucal, glándulas salivales, lengua y músculos masticadores (Barone, 1966). Esta amplia zona de aferencias se suma a la posición inicial de estos linfonódulos en los esquemas de flujo linfático. No obstante, otros autores han reportado resultados diferentes, con preferencia de afectación sobre linfonódulos retrofaríngeos y sublinguales (quizás haciendo referencia a glándula sublingual) (Niederauer Weis *et al*, 1992c), sobre linfonódulos retrofaríngeos y carrillos (Tessele *et al*, 2014k) o indistintamente sobre linfonódulos mandibulares, subparotídeos, reftrofaríngeos y sublinguales (Andeazza *et al*, 2013f). Los resultados obtenidos sobre cambios a la palpación, tamaño de las deformaciones, presencia de fístulas y características del exudado permiten concluir desde el punto de vista clínico que las lesiones evolucionaron con abscedación de linfonódulos y tejidos blandos adyacentes y esta característica es propia y distintiva de la Actinobacilosis bovina (Tessele *et al*, 2014l).

Cabe aclarar que la consistencia característica del absceso es fluctuante. No obstante, la cantidad de tejido fibroso, que incrementa con la cronicidad, le otorga mayor consistencia a la alteración (Golberg 2012 en Tessele *et al* 2014ll; McGavin 2007).

Del análisis de las variables observadas cambios a la palpación, tamaño de la deformación y presencia de drenaje, surge que todos los casos descritos se encontraron en etapa crónica o resuelta del proceso patológico. Esto se sustenta con datos anamnésicos obtenidos y en el análisis semiotécnico de los cambios anátomo-patológicos encontrados (Runnells *et al*, 1979). Los signos de inflamación crónica registrados tuvieron una duración variable (semanas o meses), coexistiendo en este período lesiones tisulares y los intentos de reparación (Robin y Coltran 2010).

En el estudio observacional no se encontró compromiso lingual en ninguno de los 29 casos detectados. No obstante, durante el muestreo en frigorífico se encontró compromiso inflamatorio en tejido lingual en 6 de los 91 casos estudiados (6,59%). Otros estudios arrojaron resultados diferentes. En muestras procedentes de frigoríficos y procesadas en Laboratorio de Patología Veterinaria de la Universidad de Santa Maria (UFMS) en Río Grande do Sul, de 24 casos de Actinobacilosis, 8 (33,3%) presentaron lesiones en lengua (Tessele, 2014). En otro estudio (Andreazza *et al*, 2013g) sobre casos de archivo de exámenes anátomo-patológicos y

de necropsias en la Universidad Federal de Rio Grande do Sul (SPV-UFRGS), el 50 % de los casos examinados presentaron lesiones en lengua. Sin embargo, este valor fue considerado en otros trabajos como excesivo (Riet Correa, 2007 en Andeazza *et al* 2013h). En cambio, Lignieress y Spitz, en la descripción de la enfermedad en Argentina informan la localización lingual comprendiendo al 5% del total de los casos (Lignieress t Spitz, 1902e), valor que se corresponde con el hallado en el muestreo en frigorífico durante este estudio.

El exudado encontrado, blanco-amarillento, espeso, de alta cohesión y baja adhesividad es característico de Actinobacilosis (Jones, 1997 en Tessele *et al*, 2014l). Una detallada descripción de las características macroscópicas permite diferenciar lesiones por Actinobacilosis de otras patologías granulomatosas. Las características abscedativas del proceso, con tendencia a sobresalir de los tejidos adyacentes, el aspecto del exudado y la localización de las lesiones son elementos orientadores para el diagnóstico (Tessele *et al*, 2014ll). Específicamente, el pus con las mencionadas características se diferencia claramente del material procedente de lesiones tuberculosas, cuya consistencia es arenosa y de alta adhesividad.

Dado que se ha propuesto que enfermedades como Actinobacilosis pueden incidir por similitud de lesiones sobre decomisos por Tuberculosis en inspecciones sanitarias en plantas frigoríficas (Dubarry *et al*, 2004c), la detallada descripción de las características anátomo-patológicas de lesiones por Actinobacilosis contribuye al diagnóstico clínico y a la correcta discriminación de los decomisos.

8 - 10 Resultados Etapa C

Finalizado el estudio observacional, en tres establecimientos en los cuales durante el mencionado estudio se identificaron factores asociados con la presencia de AGM, ocurrieron nuevos casos.

La localización de las lesiones en estructuras anatómicas correspondientes con linfonódulos mandibulares fue de un 60 %, un 20 % con linfonódulos subparotídeos y el 20 % restante localizaciones múltiples.

Las características palpatorias de las deformaciones revelaron sensibilidad y temperatura aumentadas con consistencia firme. El exudado, abundante y blanco-amarillento, espeso, de alta cohesión y baja adhesividad, microscópicamente presentó células inflamatorias de población mixta y detritos celulares.

Como se detalla en metodología, se realizaron identificaciones bacteriológicas primarias que luego fueron confirmadas a partir de caso N°3 en centro de referencia, determinándose la presencia de *Actinobacillus lignieresii* NCTC 4189 según identificación realizada por el perfil fenotípico y secuenciación parcial del gen 16S.

Si bien estaban previstos en la elaboración del proyecto la realización de estudios histopatológicos, en función de la factibilidad económica y frente a la evidencia etiológica los mismos no se realizaron.

Se obtuvieron muestras sanguíneas en cuatro animales sanos y cuatro enfermos, analizándose los siguientes parámetros: hematocrito, cantidad de glóbulos rojos, concentración de hemoglobina, cantidad de leucocitos, neutrófilos y linfocitos, relación entre neutrófilos y linfocitos, eosinófilos y monocitos. Los resultados de los parámetros sanguíneos estudiados, en animales sanos y enfermos se muestran en tabla 8.

Tabla 8: ^a Mediana y ^b Rango de parámetros sanguíneos estudiados.

Parámetro	Hto %	Hb. g/dl	Leuc. $10^3/\text{mm}^3$	PMN $10^3/\text{mm}^3$	Linfoc. mm^3	PMN/L	Eosinófilos mm^3	Monocitos mm^3
-	32 ^a 32 - 33 ^b	11.15 11-11.4	11.6 11.3-12.6	5.2 5-5.9	6.0 5.7-6.1	0.89 0.82-0.95	183 113-354	232 226-252
+	29.95 27.5- 33	10.5 10-12	10.7 8.4-10.9	5.2 4.8-5.8	4.7 2.8-5.5	1.3 1-1.8	106 84-218	290 212-428
D	NS.	NS.	p < 0.05	NS.	p < 0.05	p < 0.05	NS.	NS.

Puede observarse que los valores absolutos de leucocitos, linfocitos y la relación PMN/Linfocitos difirieron significativamente entre los animales enfermos y sanos, en tanto que el resto de los parámetros son normales.

8 - 11 Discusión Etapa C

Los resultados que muestra esta etapa contingente del proyecto permiten desarrollar varias líneas de análisis. Los aspectos clínicos observados repiten las características encontradas durante el estudio observacional en cuanto a localización anatómica.

Otro aspecto importante de estos episodios clínicos fue la obtención de muestras para bacteriología (y su envío a un centro de referencia) a partir de casos iniciales de la enfermedad. A partir de ellos pudieron obtenerse aislamientos primarios coincidentes con el posterior aislamiento en un centro de referencia de *Actinobacillus lignieresii*. Este hallazgo refuerza la idea que géneros distintos a *Actinobacillus*, como los encontrados la etapa A de este estudio, actuarían en forma secundaria.

Con respecto a los resultados de bioquímica sanguínea en animales afectados, los valores absolutos de leucocitos, linfocitos y la relación PMN / linfocitos difirieron significativamente entre los animales enfermos y sanos. Los valores hallados para linfocitos y relación PMN / linfocitos pueden ser asociados a situaciones de estrés crónico, a la acción del patógeno o a ambos factores. Las características de este estudio limitan la posibilidad de concluir si los cambios encontrados en el leucograma de los bovinos enfermos podrían estar asociados a los factores relacionados a situaciones de estrés crónicos identificados. No obstante, los resultados observados en los animales afectados en este estudio, coinciden con Romero Peñuela (Romero Peñuela *et al*, 2011a) quien establece una relación entre estos cambios y la respuesta al estrés. Otros autores (Shaw *et al*, 1992_a), (Blanco *et al*, 2009) también han puesto en evidencia que alteraciones del leucograma pueden interpretarse como indicios de estrés crónico. Probablemente la persistencia de estímulos nocivos obligan a mantener altas las tasas de glucocorticoides a los efectos de asegurar mecanismos de protección, incrementando el número y el porcentaje de neutrófilos, mientras que decrecen los linfocitos (Shaw *et al*, 1992_b), (Koscinczuk 2014).

Estudios de cohorte con muestreos más amplios suministrarían evidencias para estos casos, donde factores estresantes que provocan alteraciones del sistema inmune, al actuar sobre bovinos de un perfil genético, podrían favorecer las presentaciones de Actinobacilosis.

9 - Discusión General

Tal como fue planteado en el marco teórico, distintos campos de conocimiento como la Epidemiología, la Semiología, la Clínica y la Microbiología guiaron la obtención de datos y el análisis de la información durante el trabajo en esta tesis. A su vez, los enfoques sistémico y semiótico operaron como nexos para vincular los hallazgos.

Se utilizaron diferentes estrategias del enfoque sistémico como la detección de interacciones y el accionar iterativo que dieron soporte al marco teórico planteado y una mejor interpretación del proceso salud-enfermedad.

Desde la óptica semiótica, planteada en el marco teórico, tanto los datos obtenidos del examen físico de los animales como aquellos procedentes del estudio observacional, son signos. Como se ha mencionado, a partir de la lógica de Charles Peirce, se amplía la noción de Signo (Eco, 1980), se lo entiende como un proceso, en el que los rasgos observados son componentes a partir de los cuales se involucran elementos del propio animal y de su entorno ambiental. De este modo se favorece la detección de las relaciones contextuales, interacciones o correspondencias entre los componentes del sistema.

La detección de las relaciones contextuales en situaciones grupales, como se da en ámbitos productivos, presenta diferencias con respecto a situaciones clínicas individuales. En casos grupales, éstas son más extensas, se presentan con menor contigüidad, de manera más dispersa y más desagregadas en el ámbito físico que en los casos individuales. Todos estos soportes teóricos favorecieron y orientaron la búsqueda de información en las unidades productivas, la construcción e identificación de variables y condujeron a identificar y definir las relaciones entre el problema estudiado y el contexto. De este modo se instrumentó la metodología en el área de estudio buscando elementos que podrán aportar a su prevención y control.

A partir de la prevalencia hallada y de los datos anamnésicos que evidenció la presencia persistente de los problemas clínicos, se plantea la discusión acerca del carácter esporádico de Actinobacilosis. No obstante, se requieren más estudios que den cuenta de posibles tendencias estacionales en cuanto a su forma de presentación y del carácter no esporádico y generalizado de esta afección.

Pudo observarse que las mayores prevalencias se asociaron significativamente o como tendencias a variables relacionadas al manejo de los animales en las unidades productivas, tal

es el caso del balance de trabajo (negativo), el tipo de participación del Médico Veterinario (ocasional) y la experiencia laboral de los empleados (menor a dos años). La única variable no relacionada directamente con las actividades de manejo fue la condición corporal de los animales (inadecuada).

El manejo, entendido como la articulación de recursos en una unidad productiva, representa o posee una jerarquía sistémica superlativa y captó la variabilidad de otros elementos estrictamente biológicos que no expresaron asociación.

Claramente, los factores asociados con las presentaciones clínicas son la expresión negativa de las variables estudiadas y sugieren en todos los casos situaciones que desfavorecen el bienestar de los animales.

Las expresiones negativas de las variables en las unidades productivas con presencia de enfermedad pueden vincularse a situaciones de estrés crónico. Las características de este estudio limitan la posibilidad de concluir si los cambios analíticos encontrados en bovinos enfermos podrían estar asociados a los factores relacionados a situaciones de estrés crónicos identificados o a la enfermedad, pero existen referencias de rebaños sujetos a estrés considerable y se considera probable que esa situación contribuya en esas presentaciones (Parkinson *et al.*, 2010; Jubb *et al.*, 2008e).

Estudios de casos y controles, con muestreos más amplios podrían suministrar evidencias para estos casos sobre la fuerte presunción basada en una relación entre situaciones de estrés crónico, inducidas por los factores de riesgo identificados en este estudio y las presentaciones clínicas de enfermedad.

El abordaje epidemiológico en este estudio nos permite proponer que la corrección de la expresión de las variables identificadas es necesaria para lograr la reducción de la prevalencia de AGM en el área de estudio. No obstante, esta aproximación epidemiológica debe articularse con la clínica y con las identificaciones bacteriológicas.

En este sentido, si bien en este estudio y en otros (Ladeira *et al.*, 2010b; Da Rosa Curcio *et al.*, 2002f) se han reportado distintos agentes bacterianos en lesiones granulomatosas similares a las de Actinobacilosis, dada la cronicidad y la presencia de fístulas puede proponerse para estos casos que géneros distintos a Actinobacillus actuarían en forma secundaria y este trabajo indica

que las AGM con base en sus características clínicas están correctamente diagnosticadas como Actinobacilosis.

El diagnóstico etiológico obtenido a partir de casos en el área de estudio puede considerarse seguro. No obstante, se necesita más trabajo para comprender los factores que regulan la expresión de factores de virulencia de *Actinobacillus lignieressi*, especialmente en lo que se aplican a nuestra comprensión de la transición del comensal inofensivo a patógeno agudo.

Resta también generar hipótesis de trabajo para la identificación de perfiles genéticos relacionados con las presentaciones clínicas. Dados los resultados de este estudio, vinculados al carácter generalistas de los factores asociados encontrados y al carácter ubicuo del agente causal, la identificación de bovinos susceptibles o resistentes puede ser el eje de nuevos trabajos.

Es importante destacar que, para mejorar cualquier aspecto de la salud en un conjunto de animales, deben atenderse las cuestiones intrínsecas del proceso patológico. Pero también es probable que el problema no se resuelva si no se modifican factores restrictivos externos al animal como los analizados en este trabajo. Esto impulsa a medir fenómenos complejos y analizarlos rigurosamente, como contribución para estar más cerca de resolver problemas sanitarios.

10 - Conclusiones finales

Actinobacillus fue el género bacteriano aislado con mayor frecuencia en bovinos con AGM decomisados en frigorífico y a partir de muestras de bovinos con AGM. También fueron aislados otros géneros bacterianos que actuarían en forma secundaria.

La localización predominante de las lesiones fue en linfonódulos mandibulares y tejidos adyacentes.

La caracterización clínica de las lesiones Actinobacilosis permite diferenciar esta entidad de otras patologías granulomatosas, contribuyendo a la correcta discriminación de los decomisos en frigorífico.

Las AGM se presentan, en el área bajo estudio, en forma endémica y con bajas prevalencias.

Pudo observarse que las mayores prevalencias se asociaron significativamente o como tendencias a variables relacionadas al manejo de los animales en las unidades productivas, tal es el caso del balance de trabajo (negativo), el tipo de participación del Médico Veterinario (ocasional), la experiencia laboral de los empleados (menor a dos años) y la condición corporal de los animales (inadecuada).

Las expresiones negativas de las variables estudiadas en las unidades productivas con presencia de enfermedad sugieren en todos los casos situaciones que desfavorecen el bienestar de los animales y pueden vincularse a situaciones de estrés crónico.

La corrección de la expresión de las variables identificadas es necesaria para lograr la reducción de la prevalencia de AGM en el área de estudio.

11 – Bibliografía

Albornoz, L.; Sali, G. (2012) Reporte de un caso de actinobacilosis enzoótica en vaquillonas Holando en un sistema pastoril. *Veterinaria* 48 (188), 29-31.

Andreazza D., Wouters A.T.B., Watanabe T.T.N., Boabaid F.M., Wouters F., Souza F.S., Souza S.O. & Driemeier D. (2013) Pathological and immunohistochemical characterization of actinobacillosis lesions in cattle. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 33(3), 305-309.

Angen *et al.* (2008) Development of a multiplex PCR test for identification of *Actinobacillus pleuropneumoniae* serovars 1, 7, and 12. *Veterinary Microbiology* 132, 312–318

Arenas Guzmán, R. (2008) Enfermedades por actinomicetos y bacterias. *Micología Médica Ilustrada*. 3ª ed. México, D.F.: Mc Graw-Hill Interamericana. pp.277:285.

Barberis, C.; Almuzara, M.; Sandoval, E. Nuñez Quezada, T., Paez Mendieta, E. Famiglietti, A. Vay, C. (2013) Sensibilidad “*in vitro*” de 183 aislados de *Corynebacterium* spp.: comparación de los métodos de difusión y de dilución en agar. *Revista Argentina de Microbiología* 45 (Supl. 1)

Barone R. (1966) Anatomie Comparee des mamiferes domestiques: T.III. Angiologie. Lyon: Laboratoire Anatomie Veterinaire. pp. 769-770

Bisgaard M. (1993) Ecology and significance of Pasteurellaceae in animals. *Zentralbl Bacteriol* 279, 7-26.

Blanco M; Casasús I, Palacio J. (2009) Effect of age at weaning on the physiological stress response and temperament of two beef cattle breeds. *Animal*.; 3(1):108-117.

Blood, D.C., Radosttis, O.M. (1992) Medicina veterinaria. 7ª ed. México, D.F.: Mc Graw-Hill Interamericana . Vol.1. pp. 785-786.

Boneto, M. C. (2014) Mastitis bovina causada por *Staphylococcus coagulasa negativos*. (Tesis Doctoral, Universidad Nacional de La Plata). Director: Doctora Claudia G. Raspanti Co-director: Doctora Gabriela I. Giacoboni. pp.31-34

Burges, J. C. & Romera, A. (2000) Efecto de la asignación forrajera sobre la utilización de heno y pastura durante otoño-invierno en vacas con cría. In: XVI Latin-American Congress of Animal Production (Uruguay). Balcarce: INTA, E.E.A, UNMDP, Facultad de Ciencias Agrarias pp.1-2

Recuperado de: www.produccion-animal.com.ar

Calderon, E. (1990) Investigación de reservorios ambientales de bacterias causantes de infección Hospitalaria. 1nd ed. Washington: Paltex OPS/OMS. pp. 39-41.

Campbell , S. G., Whitlock, R. H., Timon EY, J. F., & Underwood, A. M. (1975) An unusual epizootic of actinobacillosis in dairy heifers. *Journal of American Veterinary Medicine Association* 166, 604–606

Canal Didier, A. (2012) Tuberculosis bovina: vigilancia epidemiológica en mataderos de la Provincia de Santa Fe (Argentina) y evaluación de la respuesta inmune en lesiones granulomatosas de animales infectados. (Tesis Doctoral) Madrid. pp. 67

Canal, A. & Adelia, F. (2015) Enfermedades zoonóticas y pérdidas económicas detectadas en frigoríficos de Santa Fe. *Revista Argentina de Zoonosis y Enfermedades Infecciosas Emergentes*. 10(2),2.

Costa, A.; Parissia, L. Marini, P. (2001). Estudio de aspectos clínicos y productivos de bovinos lecheros con alteraciones ganglionares mandibulares. *Revista Argentina de Producción Animal* 21 (Supl. 1)

Costa, A.; Martínez, M. (2001). Prevalencia de alteraciones ganglionares mandibulares en un distrito del sur de Santa Fe. Datos preliminares. *Jornadas de Divulgación Técnico-Científicas*. Facultad de Ciencias Veterinarias. UNR Editora.

Costa, A., Marini, P. (2002). Aspectos clínicos, productivos y reproductivos en vacas de primera lactancia con alteraciones ganglionares mandibulares. *Revista Argentina de Producción Animal* Vol.22.

Costa, A.; Parissia, L. (2003). "AGM y precio de venta de bovinos afectados". *Resúmenes Técnico Científicos*. UNR Editora.

Costa, A. (2011). "Actinobacilosis, pérdida de peso y desvalorización del ganado. *XII Jornadas de Divulgación Técnico Científica* 2011. Esperanza: UNR - UNL.

Costa, A.; Dasso, L.; Marini, P.; Parissia, L.; Vidal, J. (2003). Alteraciones Ganglionares Mandibulares y precio de venta de bovinos afectados. Resúmenes de Jornadas de Divulgación Técnico –Científicas. Facultad de Ciencias. Veterinarias. UNR. UNR Editora.

Coppo, J. A. (2007). ¿ El destete precoz produce estrés en los terneros cruza cebú?(Does the early weaning produce stress in half-bred Zebu calves? *REDVET Revista electrónica de Veterinaria*, 1695, 7504.

Christensen, H., & Bisgaard, M. (2004) Revised definition of *Actinobacillus* sensu stricto isolated from animals: a review with special emphasis on diagnosis. *Veterinary microbiology*, 99(1):13-30.

Da Rosa Curcio, B.; Rosende Gomes, F.; Milanez Melo, D.; Buss Raffi, M.; Riet-Correa, F.; Regina Leal Ladeira, S. (2002). Isolamiento de *Arcanobacterium pyogenes* de Granuloma Actinomicóide em bovino. *Ciência Rural. Revista Científica do Centro de Ciências Rurais. Universidade Federal de Santa Maria, RS- Brasil*. V.32, N°5: 885-889 ISSN 0103-8478.

Del Rio, M. L., Martín, C. G., Navas, J., Gutierrez-Muniz, B., Rodriguez-Barbosa, J. I., & Ferri, E. R. (2006) *aroA* gene PCR-RFLP diversity patterns in *Haemophilus parasuis* and *Actinobacillus* species. *Research in Veterinary Science*, 80(1),55-61.

Dedieu, B., Laurent, C., & Mundler, P.(1999) Organisation du travail dans les systèmes d'activités complexes [Intérêt et limites de la méthode Bilan Travail]. *Économie rurale*, 253(1),28-35.

Dubarry, J.R.; Alvarez A.R. , Errea, A.L.; María, A.; Vera, O.; Vespoli Pucheu, V.; Galeano, M.F. (2004). Actinomicosis y Actinobacilosis: Una causa frecuente de lesiones granulomatosas en los bovinos del Departamento Maracó de la Provincia de La Pampa, República Argentina. *Ciencia Veterinaria* 6 (1), 37-38.

Eco, U. (1980). Signo. 2ª ed. Barcelona: Labor. pp. 9-11.

Forsythe, S.; Hayes, P. (2002). Higiene de los alimentos, microbiología y H.A.C.C.P. Acribia S.A. Zaragoza. pp. 97-98.

García-Paloma, J. A. (1990). El método de la condición corporal en vacuno lechero: propuesta de una metodología unificadora. *Investigación agraria. Producción y sanidad animales-INTA (España)* 5(3):121-130.

Gasselin, P.; Cloquell, S.; Moscinaro, M. (comp.) (2013) Adaptaciones y transformaciones de las agriculturas pampeanas al inicio del siglo XXI. Buenos Aires: Ediciones Ciccus. pp. 8-9.

Gelberg HB. Alimentary system. In: McGavin MD, Carlton WW, Zachary JF, editors. Thomson's Special Veterinary Pathology. 3rd ed. St. Louis: Mosby; 2001. pp. 1–79

Gutiérrez, A., & Simón, L. (1974). Efecto de la rotación y la carga de terneros en pastoreo sobre la ganancia de peso vivo y la incidencia parasitaria. In: *Serie técnico científica*, 3.

Hosmer, D.W. & Lemeshow, S. (1989). Applied Logistic Regression. New York: John Wiley. pp.307.

INTA Ediciones. (2008). Registro de Enfermedades en Rumiantes. Programa de Interacción Profesional. Centro Regional Buenos Aires Sur. *En Publicaciones Regionales INTA N° 26 y 27*. pp.2

Jones T.C., Untr.D. , King N.W. (2000). Patologia Veterinária. 6º ed. São Paulo: Manole. Cap. 10. pp.465-495

Jubb, K.V.; Kennedy, P.C.; Palmer, N. (2008). Pathology of Domestic Animals. 5th ed. Edited by M. Grant Maxie. Edinburgh: Saunders Elsevier. pp. 2-20

Jubb, K.V.; Kennedy, P.C.; Palmer, N. (1990) Patología de los Animales Domésticos. 3ª ed. Buenos Aires: Hemisferio Sur. pp. 41-44

Kokotovic, B., Angen, Ø., Bisgaard, M. (2011). Genetic diversity of *Actinobacillus lignieresii* isolates from different hosts. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 53(1),6.

Kokotovic, B. & Angen, O. (2007) Genetic Diversity of *Actinobacillus pleuropneumoniae* Assessed by Amplified Fragment Length Polymorphism Analysis. *Journal of Clinical Microbiology*, 45(12), 3921-3929.

Koscinczuk P. (2014). Ambiente, adaptación y estrés. *Rev. vet.* 25: 1, 67-76.

Ladeira, S. Riet Correa, F. Bonel Raposo, J., Pacheco, C., Gimeno, E., Portiansky, E. (2010). Lechiguana em bovinos: aspectos patogênicos. *Revista Ciência Rural*, 40 (4). 944-948.

Latini, O., Canal, A., Ferrara, M., Sequeira M., Sequeira, G., Bagnaroli, R., Torres, P. (1997) Confiabilidad en la determinación de prevalencia de infección por *Mycobacterium bovis* en ganado bovino por decomisos en frigoríficos. *Arch. med. vet.* 29(2), 19-204.

Lentsch, R. & Wagner, J.E. (1980) Insolation of *Actinobacillus lignieresii* and *Actinobacillus equi* from laboratory Rodents. *Journal of Clinical Microbiology*, 12(3),351-354.

Lignieres, J., Spitz, G. (1902). L'actinobacilose. *Bull Soc. Centr. Med. Vet.* 20:487-536.

Lopez Vázquez, R.; Casp Venaclocha, A. (2004). Tecnología de los alimentos. Tecnología de mataderos. Mundiprensa. Madrid. pp. 351-357.

Magnano, G., Macias, A., Macio, M., Costamagna, F., Caminos, J., Sticotti, E., Schneider, M., Schieef, N., Giraud, J. (2010). Actinobacilosis atípica en un engorde de bovinos. *Revista de Medicina Veterinaria*. 91, (5/6).

Margineda, C., Odriozola, E., Moreira, A., Cantón, G., Micheloud, J., Grdey, P., Spetter, M., Campero, C. (2013). Atypical actinobacillosis in bulls in Argentina: granulomatous dermatitis and lymphadenitis. *Pesquisa Veterinaria Brasil*. 33(1),1-4.

Merck Manual de Veterinaria. (2007) 6ª ed. Barcelona: Océano/Centrum. pp. 464.

Marchant, I. & Packer, R. (1980) Bacteriología y virología veterinaria. 3ª ed. Zaragoza: Acribia. pp. 381-383.

Milne, M.H., Barrett, D.C., Mellor, D.J., Fitzpatrick, J.L. & O'Neill, R. (2001) Clinical recognition and treatment of bovine cutaneous actinobacillosis. *Vet. Rec.* 148,273-274.

Miranda, A.O. (2014). Epidemiology of cattle diseases in the northeast of La Pampa, Argentina. *Rev Vet* 25(2), 81-86.

Morales, G. (2012). Relación entre la condición corporal y el nivel de infestación parasitaria en bovinos a pastoreo como criterio para el tratamiento antihelmíntico selectivo. *Rev Inv Vet Perú* 23 (1), 80-89.

Nakazawa, M., Kagemori, Y. & Azuma, R. (1979). Serological variants of *Actinobacillus lignieresii* in slaughtered cattle. *Japanese Journal of Veterinary Science*. 41(1),89-90.

Niederauer Weis, R. & Nogueira Santos, M. (1992) Determinação da etiologia de granulomas actinomicoides em bovinos no Rio Grande do Sul a través da Histoquímica.). *Pesq. Vet. Bras*. 12(3/4),71-76.

Noro, M., Vargas, V., Pulido, R., Wittwer, F. (2006). Efecto del tipo de concentrado sobre indicadores sanguíneos del metabolismo de energía y de proteínas en vacas lecheras en pastoreo primaveral. *Arch. Med. Vet.* 38 (3), 227-228.

Norskov, N., Lauritsen, H., Christensen, Okkels, H., Kilian. M., Bruun, B. (2004). Delineation of the genus *Actinobacillus* by comparasion of partial infB sequences. *Internatinal Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54, 635-644.

Parkinson TJ, Vermunt JJ & Malmo J (2010). Diseases of Cattle in Australasia. A Comprehensive textbook. Vetlearn,

Peli, A., Spadari, A., Romagnoli, N., Bettini, G., Scarpa, F., Pietra, M. (2009) An atypical case of respiratory actinobacillosis in a cow. *J. Vet. Sci.* 10, 265-267.

Problemática de los excesos hídricos para la agricultura en el Sur de Santa Fe (2014) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria Centro Regional Santa Fe. Martinez, F. Estación Experimental Agropecuaria INTA Oliveros Agencia de Extensión Rural Casilda. Documento de difusión Julio de 2014.

Radostits O.M., Gay C.C., Blood D.C., Hinchcliff, K.W. (2007) *Veterinary Medicine*. 10th ed., London: W.B. Saunders-Elsevier. pp. 1044-1048.

Radostits, O.; Gay, C.; Blood, D.; Hinchcliff, K. (2002). *Medicina Veterinaria. Tratado de las enfermedades del ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino*. Vol. 1. 9ª ed. Mc Graw-Hill. Editorial Intermedica. España. pp. 3-45.

Rebhun, W. C. (1999). *Enfermedades del ganado vacuno lechero*. Zaragoza: Acribia. pp. 239-40

Rebhun, W.C, King, J.M. & Hillman, R.B. (1988) An atypical actinobacillosis granulomas in cattle. *Cornell Vet.* 78, 125-130.

Robbins y Cotran. (2010). Patología estructural y funcional. Madrid: Elsevier. pp. 70-75.

Romero Peñuela, M.H.; Uribe - Velasquez, L.F.; Sanchez Valencia, J.A. (2011). Biomarcadores de estrés como indicadores de bienestar animal en ganado de carne. *Rev. Biosalud (Colombia)* 10, 1, 81-82.

Runnells, A., Monlux, W., Monlux, A. (1979). Principios de Patología Veterinaria. Anatomía Paológica. México. Compañía Editorial Continental, S.A. pp. 248-249.

Rycroft, A. & Garside, L. (2000). Actinobacillus species and their role in animal disease. *The Veterinary Journal*, 159(1), 18-36.

Sharma, M., Soni, K., Singh Saggu. G. (2014) Extra Cellular Enzyme Production by *Actinobacillus*: A thermophile present in cattle composta. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci* 3(8), 1081-1094.

Shaw FD, Tume RK. (1992)The assessment of pre – slaughter treatments of livestock by measurement of plasma constituents – A review of recent work. *Meat Sci.* ; 32(3):311-329.

Schiavon, E., Carminato, A., Zecchin, G., Masiero, D., Rampin, F., & Mutinelli, F. (2010). Actinobacillosis (*Actinobacillus lignieresii*) in a Limousine cattle: comparison of diagnostic methods. *Summa, Animali da Reddito*, 5(9), 64-66.

Schlam, O.W. Jain, N.C.; Carroll, E.J. (1981) Hematología Veterinaria 1ra Ed. Español. Editorial Hemisferio Sur. S.A. Buenos Aires Argentina: 89-228.

Sistema Sanitario Productivo y Participativo (2010). Ministerio de la Producción de la Provincia de Santa Fe. Secretaría de Sistema Agropecuario, Agroalimentos y Biocombustibles.. pp. 96

Smith, B.(2010) Medicina interna de grandes animales. 4^a ed. Barcelona: Elsevier. pp. 782-784

Soca, M., Roque, E., & Soca, M. (2005). Epizootiología de los nemátodos gastrointestinales de los bovinos jóvenes. *Pastos y Forrajes*, 28(3).

Soto, C. y Reinoso, V. (2007). Suplementación proteica en el ganado de carne. *Revista de la Sociedad Veterinaria del Uruguay Montevideo*. 42(167):27-34.

Tageldin, M.H., el Sanousi, S.M., Suliman, T.A., Fawi, M.T. (1988) Concurrent infection with *Mycobacterium farcinogenes* and *Actinobacillus lignieresii* in slaughtered cattle. *Journal of Comparative Pathology* 99(4),431-7.

Tessele, B., Martins, T.B., Vielmo, A., Barros, C.S.L. (2014). Granulomatous lesions found in cattle slaughtered for meat production. *Pesquisa Veterinaria Brasileira* 34 (8),763-769.

Teran Rincon, G. (2001) Indicadores nutricionales en pacientes infectados con virus de inmunodeficiencia humana / Nutritional indicators in HIV infected patients. *An. venez. nutr* 14(1), 27-34.

Thrusfield, M. (1990). *Epidemiología Veterinaria*. Zaragoza: Acribia. pp. 26-27.

Till, H. and Palmer, F. (1960) A review of Actinobacillosis with a study of the causal organism. *Vet. Rec.* 72:527-534.

Topley, W.; Wilson, G.; Miles, A. (1994). Actinobacillosis in: *Bacteriología e Inmunidad*. Editorial Salvat. 2º Ed. pp. 1251-1252.

Ungerfeld, R.; Hötzel, M.; Quintans, G. (2012). *Veterinaria (Montevideo)* 48 Supl. 1.

Vázquez Navarrete, J. (2005) Manual para el diagnóstico de las enfermedades de los ovinos y caprinos en Méjico. :19-21.

Zachary, J. & McGavin, M. (2011). *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. 5ª Ed. Elsevier, St Louis, 1322.

Zulbey, Ch. (1994). Aislamiento de Gram Negativo em leche cruda com antibióticos. Revista Científica FCV-Luz. Vol IV N° 1. PP. 13-14