

ESTATUS DE LA BRUCELOSIS BOVINA EN ESTABLECIMIENTOS PRODUCTORES DE LECHE DE LOS DEPARTAMENTOS CASTELLANOS Y LAS COLONIAS, PROVINCIA DE SANTA FE

VANZINI, V.¹, AGUIRRE, N.², TORIONI, S.¹, CANAL, A.³,
GRAMAGLIA, J.³, GUGLIELMONE, A.¹, SODIRO, A.³ & BERGAMASCO, M.³

RESUMEN

Se describen los resultados de una encuesta serológica realizada en muestras de leche del total de un ordeño (MLTO) para determinar la proporción de establecimientos positivos a brucelosis bovina. En total se procesaron 2010 MLTO obtenidas de los tanques refrigerados de establecimientos de los departamentos Las Colonias y Castellanos (Santa Fe). Las MLTO fueron procesadas por la prueba del anillo en leche (PAL) y un ensayo inmunoquímico indirecto (ELISA-i). Se analizaron 1044 MLTO provenientes de 46 distritos del departamento Castellanos. Treinta (2,9%) MLTO resultaron positivas a las dos pruebas. Si se considera cada una de las pruebas por separado, 31 MLTO (3%) fueron positivas a PAL y 46 (4,4%) resultaron positivas a ELISA-i. Sólo 1 muestra resultó positiva a PAL y negativa a ELISA-i. En 19 distritos en los que se distribuyen 318 establecimientos (30,5%) analizados, no se detectaron muestras positivas a PAL y/o ELISA-i.

En el departamento Las Colonias se analizaron 966 MLTO de 36 distritos. Se detectaron 8 (0,8%) MLTO positivas a las dos pruebas. Si se considera cada una de las pruebas por separado 11 (1,1%) MLTO fueron positivas a PAL y 18 (1,9%) resultaron positivas a ELISA-i. Tres muestras resultaron positivas a PAL y negativas a ELISA-i. En 21 distritos en los que se distribuyen 479 establecimientos (49,6%) analizados, no se detectaron muestras positivas a PAL y/o ELISA-i. Las 966 y 1044 MLTO analizadas representan el 80,4% y 78,4% del total de los establecimientos productores de leche de los departamentos Las Colonias y Castellanos, respectivamente. La baja prevalencia observada sugiere que es posible erradicar la brucelosis de los establecimientos productores de leche, al tiempo que deberían intensificarse los trabajos de control y erradicación en establecimientos de cría teniendo como objetivo lograr un área libre de brucelosis.

Palabras clave: *Brucella abortus*, brucelosis, epidemiología, Santa Fe, Argentina.

1.- INTA, EEA Rafaela, C. C. 22. (2300) Rafaela, provincia de Santa Fe.

E-mail: vvanzini@rafaela.inta.gov.ar

2.- Sargento Cabral 23. (2300) Rafaela, provincia de Santa Fe.

3.- Ministerio de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación. Bv. Pellegrini 3100. (3000) Santa Fe.

Manuscrito recibido el 2 de setiembre de 2002 y aceptado para su publicación el 6 de noviembre de 2002.

SUMMARY

Status of the bovine brucellosis in dairy farms from Castellanos and Las Colonias departments of the Santa Fe province, Argentina.

A survey to estimate the proportion of dairy herds serologically positive to bovine brucellosis was carried out on the departments Las Colonias and Castellanos of the Santa Fe province, Argentina. A total of 2010 bulk milk samples from dairy farms were tested by the brucellosis ring test (BRT) and an indirect enzyme immunoassay (i-ELISA). On 1044 bulk milk samples from 46 districts of Castellanos department, 30 (2.9%) were positives to both tests. Considering each test separately, 31 (3%) bulk milk samples were positive to BRT and 46 (4.4%) were positive to i-ELISA. Only one sample was positive to BRT and negative to i-ELISA. On 19 districts which involve 318 (30.5%) of the tested farms, there were no positive samples to both tests.

In Las Colonias department 966 bulk milk samples from 36 districts, were analyzed. Eight (0.8%) samples were positive to both tests. Considering each test independently, 11 (1.1%) bulk milk samples were positive to BRT and 18 (1.9%) were positive to i-ELISA. Three samples were positive to BRT and negative to i-ELISA. On 21 districts which involve 479 (49.6%) of the tested farms, there were no positive samples to both tests. The 966 and 1044 bulk milk samples represents the 80.4% and 78.4% of the total dairy farms of Las Colonias and Castellanos departments, respectively. The low prevalence observed suggest the possibility to eradicate the bovine brucellosis on dairy farms and intensify the control measures on beef cattle to achieve an area free of brucellosis.

Key words: *Brucella abortus*, brucellosis, epidemiology, Santa Fe, Argentina.

INTRODUCCION

La provincia de Santa Fe produce casi el 30% del total de leche de la Argentina (Secretaría de Agricultura Ganadería, Pesca y Alimentación, 2001) y el 61% del valor total de las exportaciones de lácteos lo que representa casi US\$ 200 millones, en el año 2000 (MAGIC, Ministerio de Agricultura Ganadería Industria y Comercio). Aproximadamente, la mitad de los 5.100 establecimientos productores de leche se encuentran en los departamentos Castellanos y Las Colonias y abarcan el 8,9 % de la superficie provincial (133.007 km², Instituto Nacional de Estadísticas y Censos).

La brucelosis causada por la *Brucella abortus* es, probablemente, la enfermedad de mayor importancia económica en los establecimientos productores de leche por ser una zoonosis y afectar la producción. Por ello el MAGIC y el Servicio Nacional de Sanidad

Animal (SENASA) implementaron diferentes acciones desde 1945 para controlar y eventualmente erradicar a esta enfermedad. El MAGIC (Informe Interno 694/91, 1991) realizó una encuesta serológica para determinar la prevalencia de establecimientos productores de leche con brucelosis bovina utilizando la prueba del anillo en leche (PAL) demostrando que los métodos de control utilizados permitieron disminuir la proporción de establecimientos infectados al 4% (Castellanos, Las Colonias e Iriondo) mientras que en otros superaba el 12% (La Capital, San Lorenzo, San Cristóbal).

La PAL tiene menor sensibilidad que el enzimoimmunoensayo indirecto (ELISA-i, Vanzini, *et al.*, 2001) aplicado a muestras de leche del total de un ordeño (MLTO). Estudios secuenciales (años 1994-1999) utilizando ambas pruebas aplicadas a MLTO en un rango de 250 (año 1999) a 330 (año 1994) mostraron un incremento de la pre-

valencia de establecimientos productores de leche infectados con brucelosis desde el año 1994 (3,9% positivos a PAL, 4,9% positivos a ELISA-i) hasta el año 1996 (8,1% a PAL, 10,7% a ELISA-i) para disminuir en forma continua hasta el año 1999 cuando se observó una prevalencia de 2,7% de positivos a PAL y 5,4% de positivos a ELISA-i, en el departamento Castellanos.

Bajo la hipótesis de que la prevalencia de la brucelosis continuó descendiendo, se diseñó un estudio para determinar la proporción de establecimientos productores de leche reactores positivos a las pruebas PAL y/o ELISA-i en los departamentos Castellanos y Las Colonias y la distribución de los mismos por distritos para obtener información epidemiológica útil que facilite la toma de decisiones en la ejecución del plan de control y erradicación de la brucelosis bovina en estos dos departamentos y/o el programa regional de control de la brucelosis bovina.

MATERIALES Y METODOS

Entre los meses de enero - abril de 2001 se obtuvieron MLTO de 1044 y 966 de establecimientos productores de leche de los departamentos Castellanos y Las Colonias, respectivamente. Estos valores representan el 78,4 % y el 80,4 % del total de establecimientos lecheros en ambos departamentos según datos obtenidos por las Unidades Ejecutoras Locales en la campaña de vacunación contra la fiebre aftosa realizada en los meses de abril-junio de 2001.

Las muestras fueron obtenidas con la colaboración de las siguientes empresas del sector lácteo, quienes suministraron la ubicación por distritos de los establecimientos: Asociación Unión Tamberos, Cabaña Estancia Santa Rosa, La Serenísima, Lácteos La Cabaña, Lácteos Santa María, Lácteos Vila,

Manfrey, Molfino Hnos., Ramolac, SanCor, Suc. de A. Williner, Tregar y Verónica.

Las muestras para la PAL se obtuvieron de acuerdo al procedimiento recomendado por el SENASA (Alonso *et al.*, 1998), con el agregado de formol como conservante, manteniéndolas refrigeradas por al menos 24 horas antes de ser procesadas. A las muestras obtenidas para la prueba ELISA-i no se les adicionó conservante y fueron congeladas a -20°C hasta el procesamiento.

La PAL fue realizada en los laboratorios de la red del SENASA que dispone cada una de las empresas lácteas, del MAGIC o en laboratorios particulares de la red del SENASA. Los resultados fueron remitidos a la EEA Rafaela del INTA para el análisis estadístico. Los resultados se interpretaron de la siguiente manera:

- anillo de crema blanco; columna de leche azul;
- + anillo de crema y columna de leche, del mismo color;
- ++ anillo de crema de color más pronunciado que la columna de leche;
- +++ anillo de crema azul oscuro; columna de leche levemente coloreada
- ++++ anillo de crema azul oscuro; columna de leche blanca.

Se consideró positivas a las muestras \geq ++ (García Carrillo, 1982).

Para el ELISA-i se utilizó el protocolo desarrollado por Vanzini *et al.* (1998). El antígeno utilizado para la prueba es un lipopolisacárido de *B. abortus* inmovilizado en una matriz de poliestireno, leche diluida 1:2 en una solución tampón con EDTA y EGTA y un anticuerpo monoclonal de ratón anti IgG₁ bovina conjugado a la enzima peroxidasa (horse radish peroxidase, HRPO). En cada placa se incluyeron por cuadruplicado un suero control positivo fuerte (C++), un suero control positivo débil (C+), un suero

negativo (C-) y el control de reactivos (Cc). Las muestras de leche fueron procesadas por duplicado, se obtuvo la densidad óptica (DO) promedio y luego se calculó el porcentaje de positividad (PP) de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$PP = \frac{DO \text{ promedio de la muestra}}{\text{Promedio de la DO del C++}} \times 100$$

Se consideró positivo a las muestras con una $DO \geq 23$ PP (Vanzini *et al.*, 2001).

recibieron muestras. Si se considera cada una de las pruebas por separado 11 (1,1%) MLTO fueron positivas a PAL y 18 (1,9%) resultaron positivas a ELISA-i.

En las fig. 1 y 2 se presentan la proporción de establecimientos positivos por distritos considerando los establecimientos positivos a PAL y ELISA-i, sólo ELISA-i positivo o sólo PAL positivo para los departamentos Castellanos y Las Colonias, respectivamente.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos con cada una de las pruebas serológicas se resumen en el Cuadro 1.

Las muestras del departamento Castellanos provenían de 46 distritos. En 19 distritos, en los que se obtuvieron 318 (30,5%) MLTO, no se detectaron muestras positivas a PAL y/o ELISA-i. De un establecimiento se desconoce la ubicación geográfica. Si se considera cada una de las pruebas por separado, 31 (3%) MLTO fueron positivas a PAL y 46 (4,4%) resultaron positivas a ELISA-i.

Las muestras del departamento Las Colonias provenían de 37 distritos. En 21 distritos, en los que se obtuvieron 479 (49,6%) MLTO, no se detectaron muestras positivas a PAL y/o ELISA-i. De 2 (0,2%) establecimientos se desconoce la ubicación geográfica. Del distrito Matilde no se

DISCUSION

Los resultados obtenidos en este estudio confirman una baja proporción de MLTO positivas a las pruebas serológicas utilizadas y las diferencias que se observan, probablemente están relacionadas con la sensibilidad de las pruebas (Vanzini *et al.*, 2001). De acuerdo a lo observado en un trabajo anterior donde se compararon las pruebas PAL y ELISA-i (Vanzini *et al.*, 2001), la probabilidad de encontrar animales infectados en establecimientos con MLTO positivas a ambas pruebas fue del 97,4%. En contraposición, cuando las dos pruebas resultaron negativas no se observaron animales infectados. Por otra parte, el 78,9% de los establecimientos con MLTO positivas a ELISA-i pero negativas a PAL, tenían al menos un animal infectado con *Brucella* sp. y de las muestras PAL positivas ELISA negativas el 25% estaba infectado. Para este último caso, cabe aclarar que el 25% surge

Cuadro 1: Resultados a las pruebas PAL y ELISA-i aplicadas a muestras de leche del total de un ordeño obtenidas en los departamentos Castellanos y Las Colonias.

Departamento	Nro. de muestras	PAL + / ELISA +		PAL - / ELISA -		PAL - / ELISA +		PAL + / ELISA -	
		Nro.	%	Nro.	%	Nro.	%	Nro.	%
Castellanos	1044	30	2,9	997	95,5	16	1,5	1	0,1
Las Colonias	966	8	0,8	945	97,8	10	1,0	3	0,3

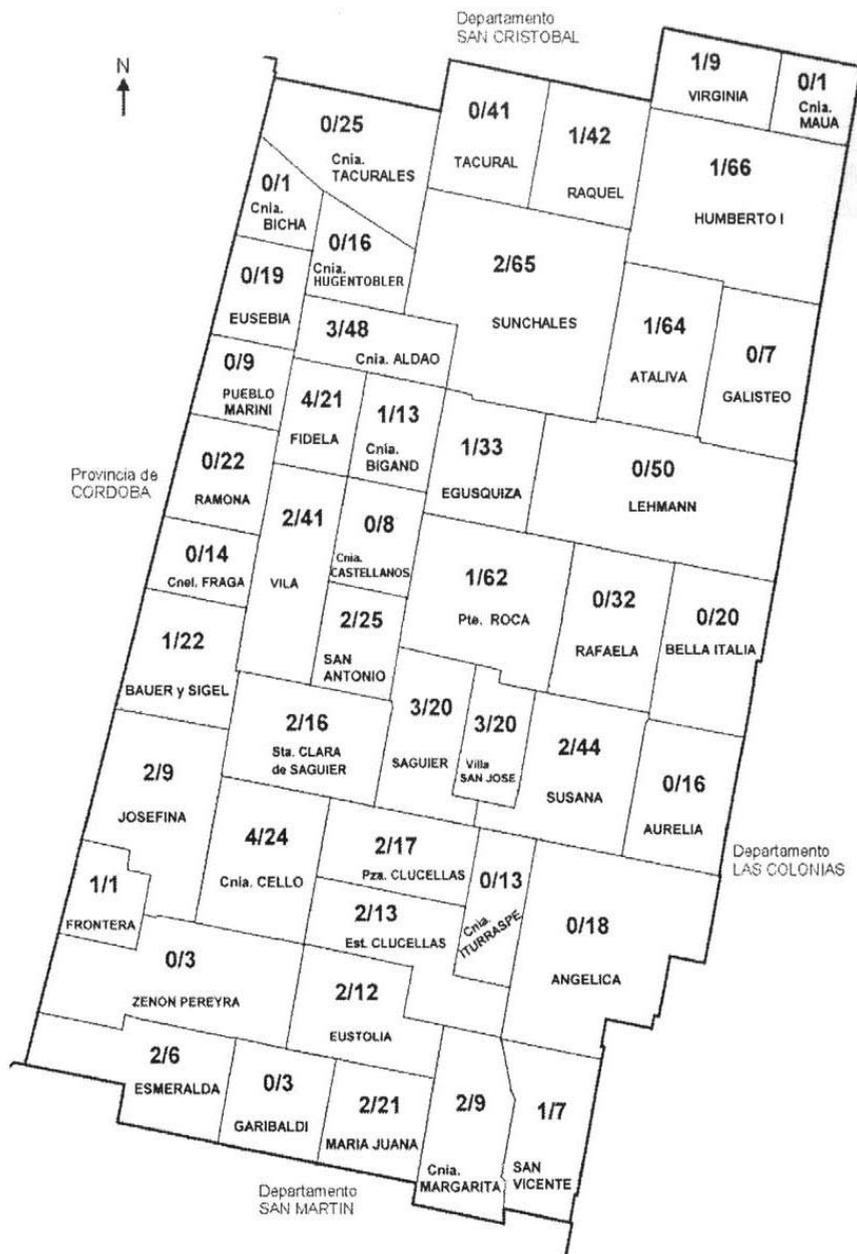


Fig. 1: Distribución por distrito de los resultados de los análisis de las muestras de leche del total de un ordeño obtenidas en el departamento Castellanos. (Nro. muestras positivas/Nro. muestras analizadas). Se presenta el mayor valor obtenido para PAL y ELISA-i positivos, o PAL positivo o ELISA-i positivo.

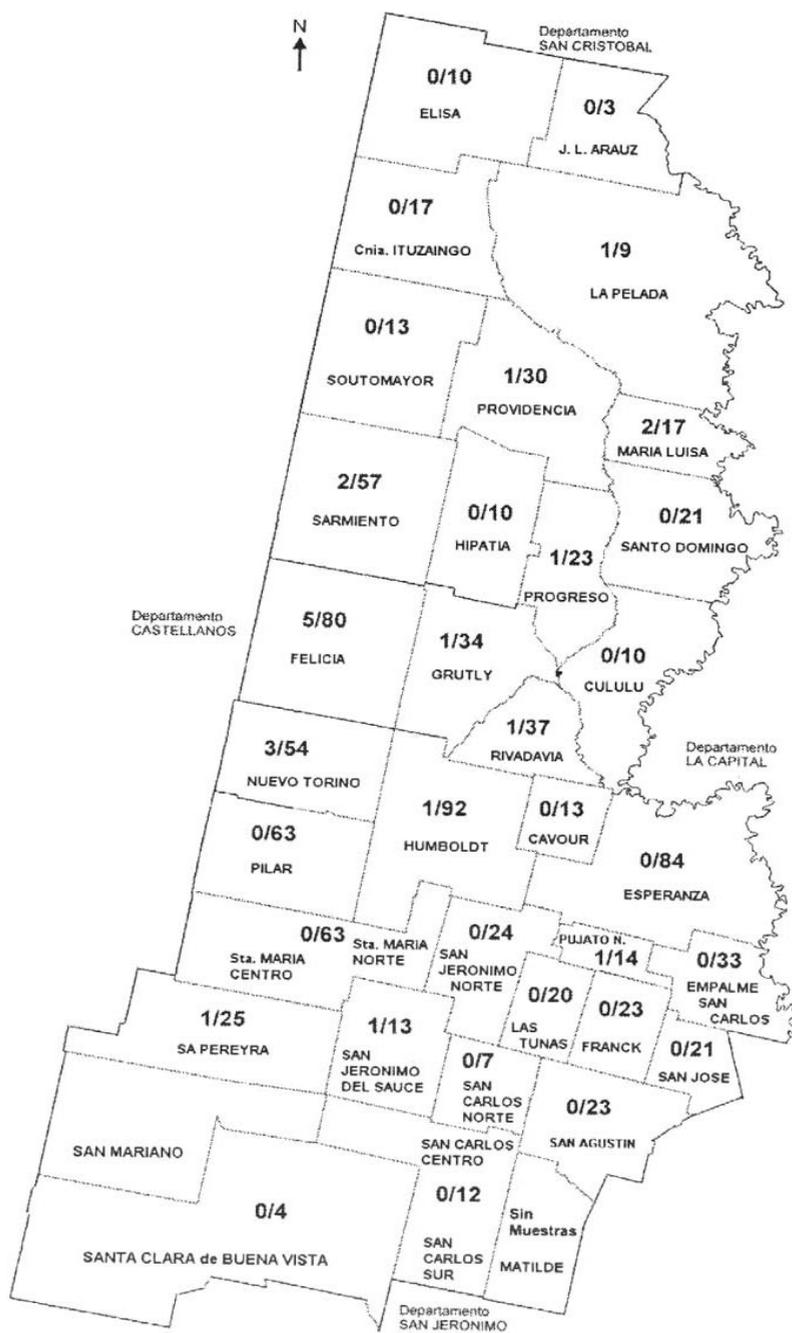


Fig. 2: Distribución por distrito de los resultados de los análisis de las muestras de leche del total de un ordeño obtenidas en el departamento Las Colonias. (Nro. muestras positivas/Nro. muestras analizadas). Se presenta el mayor valor obtenido para PAL y ELISA-i positivos, o PAL positivo o ELISA-i positivo.

de un único establecimiento con bovinos infectados de los cuatro que mostraron ser positivos a PAL y negativos a ELISA-i.

La proporción de establecimientos productores de leche positivos a estas pruebas serológicas, es inferior al 2% en el departamento Las Colonias y no supera el 4,5% en el departamento Castellanos. Esta baja prevalencia sugiere que es posible erradicar la brucelosis de los establecimientos productores de leche.

Al mismo tiempo que se avanza en la erradicación se debería mejorar e intensificar la vigilancia epidemiológica para la detección precoz del reingreso de la enfermedad a un establecimiento libre. Como la conservación de las muestras para la prueba ELISA-i no es crítica (Nielsen *et al.*, 1996), éstas se podrían almacenar congeladas para procesarlas oportunamente en un laboratorio de referencia. La vigilancia epidemiológica debe ser un proceso dinámico que permita conocer con celeridad los cambios en la prevalencia de la brucelosis, por lo tanto es imprescindible realizar controles serológicos periódicos e interpretar los resultados para implementar medidas sanitarias apropiadas.

Se debería intensificar la educación sanitaria a los productores para que solamente ingresen al hato animales provenientes de establecimientos libres de brucelosis tomando la precaución de realizar los controles serológicos como medida de seguridad.

Se debería considerar la inclusión de ELISA-i en la vigilancia epidemiológica de la brucelosis especialmente en esta área donde la prevalencia es muy baja. Esto surge de los resultados obtenidos en un estudio comparativo realizado en la EEA-Rafaela (Vanzini *et al.*, 2001) donde se analizaron muestras de 96 establecimientos. De las 54 MLTO provenientes de establecimientos con brucelosis, el ELISA-i clasificó como positivas a 53 (98,1%) mientras que sólo 39

(72,2%) resultaron positivas a la PAL. De las 42 muestras provenientes de establecimientos no infectados, el ELISA-i clasificó como negativas a 37 (88,1%) y la PAL a 38 (90,5%). Estos hallazgos coinciden con la sugerencia de la Organización Internacional de Epizootias (OIE, 2000) en cuyo manual de normas para pruebas de diagnóstico y vacunas aconseja el reemplazo de la PAL por el ELISA-i que es más sensible, especialmente en establecimientos con más de 100 animales.

Sobre un total de 2562 establecimientos (U.E.L. Las Colonias, Julio 2001), el 47% (1202) se dedican a la producción de leche, el 28% (703) tiene ganado de cría o mixto (cría e invernada) y el 25% restante, invernada. En el departamento Castellanos hay 2602 establecimientos (U.E.L. Castellanos, Julio 2001), el 51% (1331) son productores de leche, el 20% (519) tiene ganado de cría o mixto y el 29% restante, invernada. Teniendo en cuenta estos datos, se considera que se deberían intensificar los trabajos de control y erradicación en establecimientos de cría teniendo como objetivo lograr un área libre de brucelosis.

BIBLIOGRAFIA

- ALONSO, B.; E. BAGNAT; J. MANETTI & A. NICOLA.** 1998. Manual de procedimientos técnicos de diagnóstico de Brucelosis bovina. Versión 2.0. Servicio Nacional de Sanidad Animal y Calidad Agroalimentaria (SENASA). Mimeo pp 70.
- GARCIA CARRILLO, C.** 1982. Pruebas suplementarias para el diagnóstico de la brucelosis. Centro Panamericano de Zoonosis. Nota Técnica Nro. 25. OMS. Ramos Mejía, Buenos Aires, Argentina.
- MINISTERIO DE AGRICULTURA, GANA-**

- DERÍA, INDUSTRIA Y COMERCIO DE LA PROVINCIA DE SANTA FE.** 2001. **SERVICIOS E INFORMACIÓN > GANADERÍA > SECTOR LÁCTEO.** <http://www.santafe.gov.ar/magic/>
- NIELSEN, K.; P. SMITH; D. GALL; B. PEREZ; C. COSMA; P. MUELLER; J. TRO-TTIER; G. COTE; L. BOAG & J. BOSSE.** 1996. Development and validation of an indirect enzyme immunoassay for detection of antibody to *Brucella abortus* in milk. *Vet. Microbiol.* 52, 165-173.
- OIE.** 2000. Bovine brucellosis. *In: Manual of standards for diagnostic tests. List B diseases, Chapter 3.2.1.* Office International des epizooties. http://www.OIE.int/norms/mmanual/A_00044.htm.
- SECRETARÍA DE AGRICULTURA GANADERÍA PESCA Y ALIMENTACIÓN.** 2001. http://www.sagpya.mecon.gov.ar/0-3/lacteos/03_Provincia/Prov_anual.htm
- VANZINI, V.; N. AGUIRRE; C. LUGARESI; S. T. de ECHAIDE; V. G. de CAVESIO; A. GUGLIELMONE; M. MARCHESINO & K. NIELSEN.** 1998. Evaluation of an indirect ELISA for the diagnosis of bovine brucellosis in milk and serum samples in dairy cattle in Argentina. *Prev. Vet. Med.* 36:211-217.
- VANZINI, V.; N. AGUIRRE; B. VALENTINI; S. TORIONI de ECHAIDE; C. LUGARESI; M. MARCHESINO & K. NIELSEN.** 2001. Comparison of and indirect ELISA with the *Brucella* milk ring test for detection of antibodies to *Brucella abortus* in bulk milk samples. *Vet. Microbiol.* 82:55-60.