

Vigilancia epidemiológica de la brucelosis bovina en la Parroquia Buria, Municipio Simón Planas, estado Lara. Periodo 2006-2007

Ortelio Mosquera^{1*}, Rocío Freitez² y Ana T. Rumbos²

¹Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado, Unidad de Epidemiología. Barquisimeto, Lara. Venezuela. *Correo electrónico: orteliomosquera@ucla.edu.ve

²Servicio Autónomo de Sanidad Agropecuaria-Lara. Dept. Epidemiología. Barquisimeto, Lara. Venezuela.

RESUMEN

Se realizó un programa de vigilancia epidemiológica de brucelosis bovina en la Parroquia Buria, Municipio Simón Planas, estado Lara, Venezuela, durante los años 2006-2007, mediante la prueba de anillo en leche (PAL). Posteriormente, las muestras de sangre positivas de los animales fueron analizadas con la prueba serológica oficial (card test) y con las técnicas complementarias, aglutinación lenta en tubo y 2-mercapto etanol. Los resultados permitieron identificar 17 explotaciones rectoras a la PAL (8%), diez de las cuales reaccionaron con tres y cuatro cruces y el resto con dos cruces, mientras que 194 fincas resultaron negativas a la enfermedad. Entre los factores de riesgo incluidos, como empresa láctea, tipo de ordeño, vacunación, número de la muestra y superficie de la finca, no se encontró asociación estadística ($P>0.05$), pero en cuanto al tamaño del rebaño, la prueba de correlación de rangos de Spearman mostró asociación estadística ($P<0.05$). La concordancia entre la prueba PAL y la prueba oficial y 2-mercapto etanol fue muy buena entre las fincas que reaccionaron con tres y cuatro cruces y la concordancia fue buena al incluir todas las fincas rectoras. El bajo número de fincas rectoras a la prueba de anillo en leche y su concordancia con las pruebas complementarias permiten recomendar que esta técnica sea incluida en el programa, de manera de avanzar en la creación de áreas libres de la enfermedad, apoyado con un incremento de la cobertura de vacunación, un control estricto del ingreso de ganado a esta Parroquia y fortalecer la capacitación de los productores sobre el impacto de esta enfermedad en la salud pública y en la producción animal

Palabras clave: Vigilancia epidemiológica, brucelosis bovina, prueba del anillo en leche

Epidemiological surveillance of bovine brucellosis in Buria County, Simón Planas Municipality, Lara state. 2006-2007 period.

ABSTRACT

A program of epidemiological surveillance of bovine brucellosis was conducted in Buria County Buria, Simón Planas Municipality, Lara state, Venezuela, during the years 2006 and 2007, through the milk test ring (PAL). Later, positive blood samples from cattle herd animals were tested with the official serological test (card test) and with complementary techniques, standard tube agglutination and 2-mercapto ethanol. The results identified 17 farm reactors to the PAL (8%), ten of whom responded with three and four crossings and the rest with two crosses, while 194 sites were negative for the disease. Among the risk factors, including dairy company, type of milking, vaccination, number of samples, and area of land, no statistical association was found ($P>0.05$), but for the size of the herd, the Spearman's rank correlation coefficient showed statistical association ($P<0.05$). The agreement between PAL test, test card, and 2-mercapto ethanol was very good among the cattle herds which reacted with three and four crossings and a good match for all cattle herds that included reactors. The low number of cattle herds reactors to the PAL and its agreement with the complementary tests allow to recommend this technique to be included in the program, the creation of areas free of the disease, supported by an increase in

vaccination coverage, strict control of bovine entry to the county and to strength the training of producers on the impact of this disease on public health and animal production.

Keywords: epidemiological surveillance bovine brucellosis, ring test

INTRODUCCIÓN

La brucelosis bovina es una de las zoonosis más importantes que afectan a la ganadería del país, por las pérdidas económicas que ocasiona y el impacto que tiene en la salud pública (Aidorevich de Aguirre *et al.*, 2000). Las bacterias del género *Brucella* se clasifican como cacobacilos gram negativos, aerobios, inmóviles. Se reconocen actualmente seis especies: *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. neotomae* y *B. canis*. Las tres primeras son denominadas “brucelas clásicas” y se han dividido a su vez en biovars. Actualmente existen varios biovars de cada una de las tres especies más importantes: *Brucella abortus* (nueve biotipos), *Brucella suis* (cuatro biotipos) y *Brucella. mellitensis* (tres biotipos) (Radostitis *et al.*, 2002).

La brucelosis bovina existe en todo el mundo, pero se ha erradicado en Alemania, Austria, Bélgica, Bulgaria, Dinamarca, Finlandia, Hungría, Noruega, Países Bajos, Rumania, Suecia y Suiza. En América Latina, Argentina, Uruguay, Paraguay, Brasil y México tienen programas de erradicación orientados hacia el control de los factores de riesgo, como presencia de caninos en las fincas, tamaño del rebaño y la movilización de animales (Rodríguez *et al.*, 2005).

La vigilancia epidemiológica, entendida como información para la acción, constituye un instrumento de vital importancia para identificar, medir y analizar los problemas y condicionantes de la salud que afectan a la población y sobre esa base, tomar decisiones orientadas a promocionar la salud. (García, 2004). En Perú se realizó vigilancia epidemiológica de brucelosis bovina mediante la prueba del anillo en leche, durante el periodo 1987 a 1993 y la confirmación en los animales de fincas positivas se hizo con las pruebas card test y lenta en tubo, obteniendo una positividad de 2% en predios y 1% en animales y una concordancia muy buena entre la prueba del anillo en leche con la prueba card test y aglutinación lenta en tubo (López *et al.*, 1994).

En la Provincia de Santa Fe de Argentina, se realizó un estudio de la brucelosis bovina en receptorías

lácteas, mediante la prueba del anillo en leche desde el año 1989, consiguiendo una tasa de reaccionantes de 4,5%. En 1992, en 12 receptorías obtuvieron 8% en fincas y confirmadas con la prueba de card test en los animales, logrando un 8,7% de reaccionantes. (Vanzini *et al.*, 2001). En la provincia de Ñuble, Chile, se utilizaron los métodos de ELISA y anillo en leche para diagnosticar brucelosis bovina en 60 fincas durante los meses de noviembre y diciembre de 1995. Estos fueron estratificados en relación al número de vacas en producción de leche. Los resultados obtenidos por ambos métodos fueron similares, 18 muestras positivas y 42 negativas. Se observó que el mayor número de reacciones positivas se encontró en aquellos predios que poseían entre 50 y 100 vacas en lactancia (López *et al.*, 1998). En el estado de Guerrero, México, mediante la prueba del anillo en leche, fueron procesadas muestras procedentes de 4.605 animales y 307 fincas, encontrado una positividad de 52,4%. Este resultado fue confirmado con las técnicas diagnósticas, Rosa de Bengala y aglutinación lenta en tubo, que encontraron una positividad de 17±8 y 17±11% (Salgado *et al.*, 1995)

Actualmente la vigilancia epidemiológica de brucelosis bovina en el país consiste en la recolección de la información de las actividades que ejecutan los médicos veterinarios en ejercicio libre, las cuales se procesan a nivel de las oficinas sanitarias locales. Luego, ésta información se envía a la Dirección del SASA regional, que hace el consolidado del estado y lo envía al SASA central. Además, son eliminados los animales que reaccionan positivos a las pruebas complementarias, se realiza vacunación a las becerras de 3 a 8 meses de edad y se controla la movilización (Vargas, 2003)

En la Parroquia Buría del Municipio Simón Planas, estado Lara, se llevo a cabo un estudio de prevalencia de brucelosis bovina, encontrando una prevalencia por animal de 0,96% y por finca de 7,24%. Las pruebas de diagnóstico realizadas fueron card test, lenta en tubo y 2-mercapto etanol. También se encontró que solo 1,44% de los predios vacunaban con la RB51. El

resto de los factores de riesgo no mostró diferencias significativas (Rodríguez, 2004).

El presente trabajo tuvo como finalidad realizar vigilancia epidemiológica de la brucelosis bovina mediante la prueba de anillo en leche, en receptorías lácteas, queseras y fincas dedicadas a la producción de leche, a fin de detectar de una manera más rápida, los rebaños con la enfermedad y estimular de esta forma, la creación de áreas libres de esta enfermedad en el país.

MATERIALES Y METODOS

El tipo de investigación que se desarrollo es de carácter descriptivo por su finalidad, su diseño comprende un proyecto factible apoyado por un estudio de campo y por su secuencia temporal es un estudio epidemiológico longitudinal (Argimon y Jiménez, 2004).

El área geográfica contemplada en este estudio fue la Parroquia Buria del Municipio Simón Planas del estado Lara, Venezuela. El Municipio tiene una superficie de 1.109 km² correspondiendo a la Parroquia Buria, 287 km². Geográficamente se encuentra entre las coordenadas 9° 50' y 10° 00' N y 68° 50' y 69° 05' O. Limita con el estado Yaracuy por el río Buria en el que desemboca el río Turbio para formar el río Cojedes. Presenta una zona de vida de tipo Tropical Seco con una altitud de 600 msnm y una precipitación que varía entre 700 y 1.600 mm (SAGCN, 1997).

Población y muestra

La población animal estuvo conformada por las fincas que colocaban la producción de leche en las receptorías lácteas, queseras o que disponían de tanques de enfriamiento. En las fincas que resultaron positivas a la prueba del anillo en leche se tomaron muestras de sangre a toda la población bovina a fin de aplicar las pruebas complementarias y se eliminaban los animales reactores positivos. Si la prueba del anillo en leche posterior resultaba negativa era repetida dos veces con un intervalo de dos meses; en caso de continuar negativa, se recomendaba su realización anual.

Métodos e instrumentos de recolección de datos

La información de la fincas fue registrada en una encuesta epidemiológica en la cual fueron incluidas las variables que podían influir en la presencia de la

enfermedad, identificándose la fuente de información, en el caso de tratarse de una receptoría lechera, quesera o una finca con tanque de enfriamiento de leche.

La toma de las muestras en receptorías lácteas y en los tanques de enfriamiento se realizó al concluir el ordeño revolviendo previamente y tomando 50 mL de leche en tubos estériles. Las muestras se identificaron y se transportaron refrigeradas hasta el Laboratorio de Microbiología del Decanato de Ciencias Veterinarias de la UCLA, mientras que en las queseras, las muestras fueron tomadas al efectuar el recorrido en las fincas proveedores de cada una de ellas y se agregó formalina al 1% por cada mL de leche, considerando el tiempo desde la finalización del ordeño, hasta el momento de tomar las muestras.

Análisis de las muestras

Las muestras fueron mantenidas en refrigeración a una temperatura de 4 a 6°C, hasta 72 horas de su procesamiento. Una hora antes de la prueba, las muestras se llevaron a temperatura ambiente, tanto las de leche como del antígeno, luego se agitaron invirtiendo varias veces el tubo de 50 mL. Posteriormente, se colocó un mL de la muestra en un tubo 12 x 75 mm, se agregó una gota (0,03 mL) de antígeno a cada tubo, se agitó nuevamente y se incubó a 37°C durante una hora. Al concluir este tiempo se realizó la lectura de la muestra, catalogándose de la siguiente manera:

Negativo: Anillo de crema blanco, columna de leche azul.

+ Anillo de crema y columna del mismo color.

++ Anillo de crema de color más pronunciado que la columna de leche.

+++ Anillo de crema, azul oscuro y columna de leche y la columna de leche, con un poco de color azul.

++++ Anillo de crema, azul oscuro y columna de leche blanca (García, 1988).

Las muestras de leche procedentes de una receptoría lechera o una quesera se consideraron positivas a brucelosis bovina cuando la técnica resultó con más de dos cruces. En este caso, la finca se visitaba posteriormente y se extraían muestras de sangre de todos los animales para efectuar la prueba de card

test. Si eran reactores a esta prueba, se confirmaban con la técnica 2-mercapto etanol y la prueba lenta en tubo. De resultar positivas estas pruebas, el animal era marcado con una "B" en el cachete izquierdo y enviado al matadero. Para disminuir el número de animales falsos positivos se evitó tomar muestras de leches acidas y en fincas con vacas enfermas de mastitis.

Procesamiento y análisis de los datos

Los datos fueron recolectados durante los años 2006 y 2007, procesados y analizados mediante el programa estadístico Epi Info (Epi Info, 2005). También fue calculado el coeficiente de correlación de rangos de Spearman y el índice Kappa mediante el programa SPSS (SPSS, 2006). El índice kappa (k) mide la concordancia entre técnicas de diagnóstico y se interpretó como deficiente (< 0,2), regular (0,21 a 0,4), moderada (0,41 a 0,6), buena (0,61 a 0,8) y muy buena (0,81 a 1) (Salgado *et al.*, 2005).

RESULTADOS Y DISCUSION

La implementación del sistema de vigilancia epidemiológica mediante la prueba del anillo en leche se realizó en dos receptorías lácteas, cinco queseras y 14 fincas con tanques de enfriamiento de leche, obteniendo muestras de 211 fincas de las cuales 17 resultaron positivas (8%), siendo las fincas que entregan la leche a las queseras y las que tenían tanques individuales, las más afectadas con 19,3 y 21,4%, respectivamente (Cuadro 1). En cuanto a fincas individuales el resultado obtenido fue similar al obtenido en un estudio epidemiológico realizado en el estado de Guerrero, México (Salgado *et al.*, 1995).

Se realizó la prueba de χ^2 para demostrar asociación estadística entre los resultados de la prueba del anillo en leche y siguientes factores: Tipo de empresa láctea, tipo de ordeño, vacunación, orden de toma de la muestra y la superficie de la finca. La prueba demostró que todas estas variables no están asociadas a los porcentajes de positividad obtenidos por la prueba de anillo en leche (Cuadro 2). Sin embargo, mediante el coeficiente de correlación de rangos de Spearman se encontró asociación estadística entre el tamaño del rebaño y los porcentajes de fincas positivas con la prueba de anillo en leche (Cuadro 3); o sea, a mayor tamaño del rebaño, existe mayor probabilidad de ser positivo a la prueba (Figura 1). Resultados similares se obtuvo en fincas de la Provincia de Nuble en Chile (López, 1998). Igualmente, Rodríguez *et al.* (2005) encontraron que el tamaño del rebaño estuvo asociado con la presencia de la enfermedad. Con respecto al factor de riesgo, si la finca vacuna sus animales contra brucelosis bovina, el resultado difiere de los obtenidos por Rodríguez (2004) en un estudio de prevalencia de brucelosis bovina en esta Parroquia, donde se encontró que solo 1,44% de las fincas vacunaba sus animales contra brucelosis bovina.

A la población bovina de las 17 fincas positivas a la prueba del anillo en leche, se extrajeron muestras de sangre para realizar la prueba oficial de diagnóstico de brucelosis bovina (card test) y los animales que resultaron reactores fueron confirmados con las pruebas complementarias que en este estudio fueron la prueba de aglutinación lenta en tubo y 2-mercapto etanol (Cuadro 3). Para eliminar los animales positivos se tomó en consideración los resultados obtenidos por la técnica de 2-mercapto etanol, por lo que se

Cuadro 1. Fincas positivas a la prueba de anillo en leche de acuerdo a la empresa láctea

Empresa láctea	Fincas muestreados	Fincas positivas	Positividad
	----- n -----		%
Receptoría	63	3	4,8
Quesera	57	11	19,3
Finca	14	3	21,4
Total	134	17	15,2

Cuadro 2. Comparación entre los factores de estudio y las fincas positivas a la prueba anillo en leche y el estadístico de prueba χ^2 .

Factor	Positivos		Total	χ^2	P
	n	%			
<u>Empresa láctea</u>					
Receptoría	3	3,2	94	3,23	>0,05
Quesera	11	10,7	103		
Tanque individual	3	21,4	14		
<u>Tipo de ordeño</u>					
Manual	14	7,2	194	1,81	>0,05
Mecánico	3	17,6	17		
<u>Vacunación contra brucelosis</u>					
No	12	6,7	179	2,34	>0,05
Si	5	15,6	32		
<u>Numero de muestra</u>					
1	12	11,0	108	1,37	>0,05
2	3	5,2	58		
3	2	5,7	35		
4	0	0	10		
<u>Superficie de la finca (ha)</u>					
1-20	2	2,2	90	3,12	>0,05
21-50	3	6,5	46		
51-100	11	20,0	55		
101-200	0	0	11		
>201	1	11,1	9		

Cuadro 3. Coeficientes de correlación de Spearman para las variables tamaño del rebaño, número de fincas y porcentaje de fincas positivas (FP). N=5.

	Tamaño	Numero	FP
Tamaño		-1,000**	0,900*
Numero	-1,000**		-0,900*

* indica correlación significativa a nivel 0,05 (bilateral). ** indican correlación significativa a nivel 0,01 (bilateral).

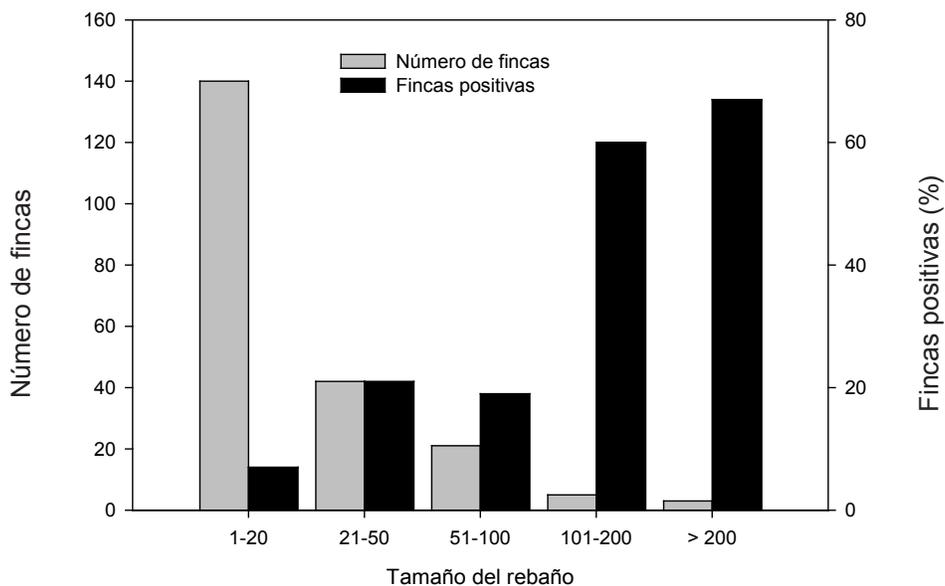


Figura 1. Número y porcentaje de fincas positivas a la prueba anillo en leche, de acuerdo al tamaño del rebaño.

Cuadro 4. Tasa de positividad de la brucelosis bovina, en fincas positivas a la prueba de anillo en leche (PAL), de acuerdo con las pruebas complementarias.

Finca	PAL	Bovinos n	Pruebas complementarias			Positividad %
			Card test	Lenta en tubo	2-mercapto etanol	
1	++++	43	4	0	2	4,6
2	++++	230	4	4	4	1,7
3	+++	6	2	0	2	33,3
4	++++	36	7	0	0	0
5	+++	41	1	1	1	2,4
6	+++	12	2	2	2	16,6
7	++++	31	3	2	2	6,5
8	+++	147	2	2	2	2,0
9	++++	84	4	0	2	2,4
10	+++	53	0	0	7	13,2
11	++	37	0	0	0	0
12	++	90	0	0	0	0
13	++	7	0	0	0	0
14	++	8	0	0	0	0
15	++	9	0	0	0	0
16	++	12	0	0	0	0
17	++	10	0	0	0	0
Total		856	29	11	24	2,8

Cuadro 5. Concordancia entre la prueba de anillo en leche (PAL) y las pruebas complementarias, mediante el índice Kappa.

PAL	Prueba complementaria		Índice Kappa
	Positivo	Negativo	
	<u>Card test</u>		
Positivo	9	8	0,67
Negativo	0	194	
	<u>Lenta en tubo</u>		
Positivo	5	12	0,43
Negativo	0	194	
	<u>2-mercapto etanol</u>		
Positivo	9	8	0,67
Negativo	0	194	

eliminaron 24 animales (2,8%) y se obtuvo una tasa de positividad de 3,6%, mientras que con la prueba aglutinación lenta en tubo, la positividad fue 1,3% y con la prueba de card test fue 3,4%. Estos resultados difieren de los obtenidos en el estado de Guerrero, México, tanto para la prueba del anillo en leche como el de las pruebas complementarias, probablemente porque la positividad fue mayor (Salgado, 1995). En relación a la concordancia entre la prueba del anillo en leche con card test y 2-mercapto etanol, ésta fue muy buena para los predios positivos con tres y cuatro cruces mientras que incluyendo los predios positivos con dos cruces el índice Kappa fue 0,67 y una concordancia moderada con la prueba lenta en tubo (0,43%) (Cuadro 5). Este resultado difiere del obtenido por Cabrera *et al.* (2005).

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La prueba del anillo en leche para diagnóstico de brucelosis bovina permitió detectar 17 fincas positivas, siendo más afectadas las que entregan la leche a las queseras y las que disponían de tanques individuales.

No se encontró asociación estadística entre los factores empresa láctea, tipo de ordeño, vacunación, orden de la muestra y superficie de la finca, pero si se encontró asociación estadística entre ser positivo en la prueba del anillo en leche y el tamaño del rebaño.

La concordancia entre la prueba de anillo en leche con resultados en tres y cuatro cruces y la prueba

oficial card test y 2-mercapto etanol se considera muy buena.

Los resultados obtenidos en este trabajo permiten recomendar la inclusión de esta prueba en el programa oficial de la brucelosis bovina en el país, ya que permitirá el progreso hacia la creación de áreas libres de la enfermedad y avanzar de esta manera hacia su erradicación.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la ayuda financiera total del CDCHT de la Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado" y al Servicio Autónomo de Sanidad Agropecuaria (SASA-Lara) por el apoyo institucional.

LITERATURA CITADA

- Aidorevich de Aguirre L., M.B. Bracamonte y N.E. Plaza. 2000. Zoonosis más Frecuentes en Venezuela. Fonaiap. Serie D, No. 41. Maracay, Venezuela.
- Argimon J. y J. Jiménez. 2004. Métodos de Investigación Clínica y Epidemiológica. 3^{ra} ed. Elsevier, Madrid, España.
- Cabrera C., E. Silva, M. Izquierdo y C. García. 2005. Validación del ELISA Davih Bru2 en el diagnóstico serológico de la brucelosis bovina. Rev. Elect. Vet., 6(5): 1-34.

- Epi Info. 2005. Programa estadístico para profesionales de salud pública. Center for Disease Control and Prevention. Ver. 3.3.2. Atlanta, EUA.
- García C. 1988. Pruebas complementarias para el diagnóstico de brucelosis. IV Curso sobre diagnóstico serológico de la brucelosis bovina en el estado Lara. Barquisimeto, Venezuela.
- García R. 2004. Vigilancia epidemiológica. Curso de gestión local de salud. Universidad de Costa Rica. Facultad de Medicina. San José, Costa Rica.
- SAGCN. 1987. Atlas del Estado Lara. Gobernación del Estado Lara Servicio Autónomo de Geografía y Cartografía Nacional. Ministerio del Ambiente. Caracas, Venezuela.
- López P., L. Olivera, R. Perales y R. Rosadio. 1994. Vigilancia epidemiológica de la brucelosis bovina en la cuenca lechera de Arequipa, Perú. *Inv. Pec.*, 7(2): 10-12.
- López J. 1998. Diagnóstico de brucelosis bovina leche por el ring test y ELISA en lecherías de la Provincia de Nuble (VIII Región), *Arch. Med. Vet.*, 30(1): 133-138.
- Radostits O., C. Gay, D. Blood y K. Hinchcliff. 2002 *Medicina Veterinaria*. Vol. I. Tratado de las Enfermedades del Ganado Bovino, Ovino, Porcino, Caprino y Equino. 9^{na} ed. Mac Graw Hill Interamericana. Madrid, España.
- Rodríguez T. 2004. Factores de riesgo asociados a la prevalencia de brucelosis bovina. Trabajo de Grado en Medicina Veterinaria Preventiva. Univ. Centrocidental Lisandro Alvarado, Barquisimeto, Lara. Venezuela.
- Rodríguez Y., W. Valera, G. Sánchez, G. Antúnez e Y. Ramírez. 2005. Brucelosis bovina, Aspectos históricos y epidemiológicos. *Rev. Elec. Vet.*, 6(9): 6-13.
- López J. y A. Best. 1998. Diagnóstico de brucelosis bovina en leche por el ring test y ELISA en lecherías de la provincia de Nuble. *Arch. Med. Vet.*, 30(1): 133-138.
- Salgado G., C. Jaramillo, L. Sánchez y J. García. 1995. Estudios de brucelosis a partir de muestras de leche de bovinos en el trópico sub húmedo del estado de Guerrero. *Vet. Mex.*, 26(1): 359-363.
- SPSS. 2006. User Manual. Statistical Package for the Social Sciences. Ver. 15.0.1. Chicago, EUA.
- Vanzini V., N. Aguire, S. Torioni, A. Canal y A. Sodiro. 2001. Epidemiología de la brucelosis bovina en establecimientos productores de leche de los Departamentos Castellana y las Colonias. Informe Técnico. Ministerio de Agricultura, Ganadería, Industria y Comercio. Provincia de Santa Fe, Argentina.
- Vargas F. 2003. Situación epidemiológica de la brucelosis en Venezuela. *Gaceta Cien. Vet.*, 8(2): 69-78.