

## VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA DE LAS INFECCIONES POR *MYCOPLASMA AGALACTIAE* EN LOS REBAÑOS CAPRINOS DEL NÚCLEO DE CONTROL LECHERO DE LA REGIÓN DE MURCIA

GÓMEZ MARTÍN, A.<sup>1</sup>; AMORES, J.<sup>1</sup>; DE LA FÉ, C.<sup>1</sup>; MOYA, F.<sup>2</sup>; MARTÍNEZ, P.<sup>2</sup>, CORRALES, J.C.<sup>1</sup>; CONTRERAS, A.<sup>1</sup> Y SÁNCHEZ, A.<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Grupo de investigación Sanidad Caprina. Departamento de Sanidad Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia. \* asanlope@um.es

<sup>2</sup>Núcleo de Control Lechero de la Región de Murcia para la raza Murciano-Granadina (NUCOLEMUR)

### RESUMEN

Con el objetivo de conocer la situación frente a las infecciones por *Mycoplasma agalactiae* en los rebaños del Núcleo de Control Lechero de la Región de Murcia para la raza Murciano-Granadina (NUCOLEMUR) se diseñó un programa de vigilancia epidemiológica que cuenta con la participación voluntaria de 51 rebaños. En las fases iniciales, se realiza el seguimiento de los análisis microbiológicos y por RT-PCR de las muestras de leche de tanque tomadas dentro del esquema del Control Lechero Oficial. Con la misma metodología laboratorial se procesaron muestras de leche individuales procedentes con animales sospechosos o con clínica compatible con la agalaxia contagiosa. Tras el inicio del programa en diciembre de 2007, se han completado dos muestreos en la totalidad de rebaños participantes detectándose hasta el momento 4 rebaños infectados por *M. agalactiae*. Hasta la fecha, la ausencia de infecciones por dicho patógeno en el 92,2% de los rebaños participantes representa una situación muy favorable que obliga a extremar las medidas de bioseguridad en dichas explotaciones. El incremento de sensibilidad obtenido en el diagnóstico mediante la RT-PCR posibilita la correcta calificación de los rebaños crónicamente infectados y la puesta en marcha de los mecanismos de lucha frente a dicho patógeno.

**PALABRAS CLAVE:** cabra, leche de tanque, agalaxia contagiosa, *Mycoplasma agalactiae*.

### INTRODUCCIÓN

Las repercusiones económicas y sanitarias de la agalaxia contagiosa (AC), junto al carácter endémico de la misma en España, justifican la puesta en marcha de programas de lucha frente a las especies del género *Mycoplasma* asociadas a dicho síndrome en la especie caprina (Corrales et al., 2007). A pesar de que la AC es una enfermedad de declaración obligatoria en nuestro país (Orden APA/1668/2004), dicha calificación no había generado estructuras de vigilancia epidemiológica que permitieran abordar la lucha frente a la enfermedad. En este sentido, cabe destacar que la primera referencia legislativa frente a la AC en el ganado ovino y caprino ha sido publicada en Castilla y León (BOC y L, 2007). Con independencia de las particularidades logísticas y administrativas del programa citado, así como de las diferencias

epidemiológicas de la AC en ambas especies, la puesta en marcha del programa representa una iniciativa fundamental que debería generalizarse en todas las comunidades autónomas y permitirá por primera vez en España, entre otros objetivos, la calificación de rebaños libres frente a la AC. Dichos aspectos han sido demandados de forma reiterada por los diferentes interlocutores implicados en el sector caprino español (Contreras et al., 2007).

El principal agente causal de la AC es *Mycoplasma agalactiae*, si bien otras especies como *Mycoplasma capricolum* subsp. *capricolum*, *Mycoplasma putrefaciens* y, principalmente, *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* LC también se encuentran asociadas a la AC en la especie caprina. Este carácter plurietiológico obliga a definir de forma muy precisa los objetivos que deben alcanzar los programas de lucha. En este sentido, la experiencia acumulada en los programas de lucha frente a la AC en los rebaños caprinos en Francia ha llevado a estratificar los mismos en función de la presencia o no de infecciones por *M. agalactiae*, siendo dicha calificación el origen de las actuaciones posteriores (VIGIMYC, 2008).

Por todo ello, el presente trabajo pretende poner de manifiesto los elementos que participan en el programa de vigilancia epidemiológica frente a *M. agalactiae* en los rebaños caprinos del Núcleo de Control Lechero de la Región de Murcia (NUCOLEMUR), las particularidades metodológicas de dicho programa, así como los resultados obtenidos en el inicio del mismo.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Para el presente programa se adscribieron de forma voluntaria un total de 51 explotaciones de ganado caprino de raza Murciano-Granadina inscritas en NUCOLEMUR. Iniciado en diciembre de 2007, el programa de vigilancia de *M. agalactiae* consta de las siguientes fases:

- Fase I. Sistema de información: mediante la elaboración de una encuesta, el programa recoge de cada rebaño los datos productivos y sanitarios relacionados con el síndrome de AC.
- Fase II. Seguimiento, análisis y sistema de alerta. Comprende la estructura de recogida de muestras, análisis laboratorial y la emisión de los informes puntuales.
- Fase III. Informes y propuestas de lucha. Con periodicidad trimestral el programa contempla la emisión de informes globales e individualizados en los que se proponen las actuaciones de control.

El programa utiliza la estructura de recogida de muestras de leche del Control Lechero oficial (periodicidad 42 días) tomando muestras de leche de tanque sin conservante que se remiten refrigeradas a laboratorio del grupo de investigación de Sanidad Caprina de la Universidad de Murcia. Al mismo tiempo se contempla el análisis de muestras de leche individuales procedentes de animales con mamitis clínicas o con otros síntomas compatibles con el síndrome de AC.

Hasta la fecha, se han procesado dos muestreos consecutivos a cada uno de los rebaños implicados (102 muestras de leche de tanque y 42 muestras de mamitis clínicas). Para la detección de *M. agalactiae*, 0,2 ml. de cada muestra de leche se sembraron en tubos de medio de cultivo líquido especial para micoplasmas (Kirchhoff y Rosengarten, 1984). Al mismo tiempo, de cada muestra se realizó la PCR en tiempo real (RT-PCR) (Tola et al., 1997). La RT-PCR se realizó en un termociclador i-cycler IQ5 (Bio-Rad) utilizando 12,5 µl de RT-PCR IQ Supermix (Bio Rad), siguiendo las recomendaciones del fabricante.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante los dos muestreos desarrollados hasta la fecha ninguna de las explotaciones participantes ha presentado brotes clínicos de AC. En el primer muestreo se detectó la presencia de *M. agalactiae* en una explotación, y en el segundo muestreo dicho patógeno se detectó en otras tres explotaciones diferentes (prevalencia = 7,8%). En todos los casos la detección de *M. agalactiae* se realizó mediante RT-PCR, resultando negativos los análisis microbiológicos realizados. La totalidad de las muestras de mamitis clínicas procesadas resultaron negativas para *M. agalactiae*.

La presencia de explotaciones infectadas por *M. agalactiae* en ausencia de episodios clínicos colectivos de AC, pone de manifiesto el carácter crónico de dichas infecciones en nuestro entorno, aspecto que confirma los resultados obtenidos previamente en donde los rebaños crónicamente infectados no presentaron modificaciones del recuento de células somáticas en la leche del tanque (Corrales et al., 2004). Habida cuenta del carácter intermitente de la excreción de *M. agalactiae*, la calificación de los rebaños debe basarse en el seguimiento longitudinal que debería incluir, como mínimo, un período productivo completo así como su renovación anual. Cabe señalar que, en los períodos considerados, el 92,2% de las explotaciones de NUCOLEMUR estudiadas han resultado negativas a la infección por *M. agalactiae*. La presencia de este patógeno en el entorno de la cabra Murciano-Granadina ha sido confirmada en estudio previos (Contreras et al., 2008) con valores similares a los detectados en la presente experiencia. Hasta el momento, el elevado número de rebaños libres de la infección por *M. agalactiae* representa una situación muy favorable que obliga a extremar las medidas de bioseguridad en dichas explotaciones, al tiempo que permite plantear la erradicación a medio plazo en los rebaños infectados.

Con carácter preliminar, los resultados obtenidos confirman la superior sensibilidad de la RT-PCR sobre el cultivo microbiológico (Tola et al., 1997). La posibilidad de contar con métodos de diagnósticos con mayor sensibilidad representa una opción de gran interés especialmente en situaciones endémicas de la enfermedad. En estas circunstancias, propias de toda la cuenca mediterránea (Bergonier et al., 1997), el carácter intermitente de la excreción y el escaso número de animales portadores podrían determinar resultados falsos negativos mediante el análisis microbiológico de la muestra de leche de tanque.

En este contexto, la calificación precisa de los rebaños representa el pilar fundamental del programa de vigilancia de cara a la puesta en marcha de las acciones posteriores previstas.

## CONCLUSIONES

La presencia de *M. agalactiae* en las explotaciones de NUCOLEMUR es escasa, resultando libre de la infección por dicho patógeno el 92,2% de los rebaños. El incremento de sensibilidad obtenido en el diagnóstico mediante la RT-PCR posibilita la correcta calificación de los rebaños crónicamente infectados y la puesta en marcha de los mecanismos de lucha frente a dicho patógeno

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se ha desarrollado en el Proyecto AGL2006-03105GAN de la Dirección General de Investigación del Ministerio de Educación y Ciencia. Joaquín Amores Iniesta es beneficiario de una beca de F.P.I del Ministerio de Educación y Ciencia asociada al proyecto de referencia.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BERGONIER D., BERTHELOT X., POUMARAT F. 1997. Contagious agalactia of small ruminants: current knowledge concerning epidemiology, diagnosis and control. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, 16:848–873.
- BOLETÍN OFICIAL DE CASTILLA Y LEÓN. (4 de junio de 2007). Nº 107:12010- 12035.
- CONTRERAS, A., SÁNCHEZ A., DE LA FE C., AMORES J., CORRALES J.C. 2007. Programa de lucha frente a la agalaxia contagiosa en Castilla y León: una iniciativa interesante. *Acrimur*, 18:42-46.
- CONTRERAS A., MIRANDA R.E., SÁNCHEZ A., DE LA FE C., SIERRA D., LUENGO C., CORRALES J.C. 2008. Presence of *Mycoplasma* species and somatic cell counts in bulk-tank goat milk. *Small Ruminant Research*, 75: 247-251.
- CORRALES J.C., ESNAL A., DE LA FE C., SÁNCHEZ A., ASSUNÇÃO P., POVEDA J.B., CONTRERAS A. 2007. Contagious agalactia in small ruminants. *Small ruminant research*, 68: 154-166.
- CORRALES J.C., SÁNCHEZ A., LUENGO C., POVEDA J.B., CONTRERAS A. 2004. Effect of clinical contagious agalactia on the bulk tank milk somatic cell count in Murciano-Granadina goat herds. *Journal of Dairy Science*, 87:3165-71.
- KIRCHHOFF H. y ROSENGARTEN R. 1984. Isolation of a motile mycoplasma from fish. *Journal of General Microbiology*, 130: 2439-2445.
- TOLA S., ANGIOI A., ROCCHIGIANI A.M., IDINI G., MANUNTA D., GALLERI G., LEORI G.1997. Detection of *Mycoplasma agalactiae* in sheep milk samples by polymerase chain reaction. *Veterinary Microbiology*, 54:17-22.
- VIGIMYC. 2008. Coordination nationale Agalactie contagieuse et mycoplasmoses des petits ruminants. Réseau d'épidémiosurveillance des mycoplasmoses des ruminants. ENV Toulouse (Francia), 20 de febrero de 2008.

**EPIDEMIOLOGICAL SURVEILLANCE OF *Mycoplasma agalactiae* INFECTIONS ON GOAT HERDS FROM MURCIA REGION MILKING CONTROL ASSOCIATION**

**SUMMARY**

To know the status of *Mycoplasma agalactiae* infections in the herds of the “Núcleo de Control Lechero de la Región de Murcia para la raza Murciano-Granadina (NUCOLEMUR)” we designed an epidemiology surveillance program joining 51 volunteer farmers. In the previous stages, we had followed the status by microbiological and RT-PCR procedures of the bulk tank milk samples. These samples were collected into the Official Dairy Control schedule. Using the same laboratory procedures we also analysed individual goat milk samples from goats with clinical mastitis or suspect of contagious agalactia syndrome. The program started in December 2007 and two whole samplings have been completed for all herds involved in the program. Four infected herds for *M. agalactiae* has been detected until now, which means that the 92.2% of the herds of NUCOLEMUR are free of this pathogen and which must be protect to avoid the introduction of this important pathogen by increasing the biosecurity rules. The improvement of the sensibility in the diagnosis by RT-PCR it is an important fact which would helps to qualify correctly the chronic infected herds and also could help to develop the fight measures against this pathogen.

**KEY WORDS:** goat, bulk tank milk, contagious agalactia, *Mycoplasma agalactiae*.