

BRUCELLA ABORTUS SIGNIFICACION DE LOS TITULOS AGLUTINANTES EN BOVINOS DE CARNE DEL URUGUAY

J. Bermúdez (*), J. Barriola (*), F. Errico (*), D. Buchelli (**)

RESUMEN:

Los autores efectúan un estudio serológico y bacteriológico sobre 738 bovinos hembras de raza de carne vacunados con cepa 19 con el objetivo de determinar la significación de los títulos aglutinantes.

La prueba de Aglutinación en Placa señala 449 (60.84 o/o) sueros con título, de ellas 32 (4.34 o/o) como sospechosos y ninguno como positivo. La Prueba de Aglutinación en Tubo señala resultados similares.

Con el Rosa Bengala se obtuvieron 42 sueros positivos (5.69 o/o) de los que dos fueron positivos al Mercaptoetanol y de ellos sólo uno a la Fijación de Complemento. Los restantes sueros todos fueron negativos a dichas pruebas. A partir de órganos (ubre y grupos ganglionares) de 64 animales seleccionados por su serología "sospechosos", se sembraron 1280 placas de Agar Dextrosa suero con inhibidores de los que no se obtuvo ningún aislamiento de *Brucella abortus*.

Los autores concluyen que los títulos aglutinantes menores de 200 u.i.a., responden en su mayoría a anticuerpos residuales de vacunación por lo que es necesario emplear otro procedimiento diagnóstico como la Prueba de Rosa Bengala en función de descartar complementada con otra prueba más específica.

Palabras Claves: BOVINO, BRUCELLA ABORTUS, DIAGNOSTICO SEROLOGICO

VETERINARIA 23 (96) 21 - 23; Enero - Marzo 87

SUMMARY:

A sample of 738 adult beef cows vaccinated with strain 19 was studied, the objective was to know the significance of agglutination titers.

The Plate Agglutination test showed 449 (60.84 o/o) sera with titers, 32 (4.34 o/o) were suspicious and none was positive. The Tube Agglutination test gave similar results. The Rose Bengal test disclosed 42 (5.64 o/o) positive sera; from these sera two were positive to the Mercaptoethanol test and one of the last ones was positive to the Complement Fixation test too. All the other sera were negative to these tests. From 1280 Agar Dextrose serum plates (with inhibitors) seeded with samples from udder and lymph nodes of 64 cows selected as possible infected, none *Brucella abortus* isolating were obtained.

The authors suggest that most of the agglutination titers < 200 i.a.u. represent in Uruguay residuals vaccination antibodies and they claim to employ a more useful diagnostic procedure like the Rose Bengal test as screening and complemented with a more specific one.

Key Words: CATTLE, BRUCELLA ABORTUS, SEROLOGICAL DIAGNOSIS

VETERINARIA 23 (96) 21 - 23; January - March 87

INTRODUCCION:

La prevalencia de la Brucelosis Bovina (B.B.) ha sido estimada en menos del 1 o/o en base a diversos muestreos. (7) Desde el año 1964 se adoptó un programa de vacunación obligatoria con Cepa 19 y basado en la participación del Veterinario particular, supervisado por la Autoridad Sanitaria. El mismo ha dado buenos resultados estimándose la cobertura de vacunación como superior al 90 o/o. (4)

Un inconveniente de la vacunación con Cepa 19 son los títulos residuales, los que en determinadas circunstancias interfieren con las pruebas diagnósticas; al comparar encuestas anteriores y posteriores a la aplicación masiva de Cepa 19, se observa un incremento en la tasa de animales clasificados como sospechosos. Dichos animales representan un inconveniente en las operaciones de saneamiento ya que deben someterse a sucesivos muestreos para determinar su clasificación manteniéndose la duda en muchos casos. El objetivo de este trabajo es estudiar la significación de los títulos aglutinantes que se detectan en el ganado de carne del país.

MATERIAL Y METODO;

El presente trabajo fue efectuado en playas de faena y en el laboratorio:

En playas de faena: Se muestrearon 738 bovinos de carne a razón de 10 por lugar de origen. Los animales eran hem-

* M.V. División Bacteriología. C.I.VET. "Miguel C. Rubino". M.G.A.P.

** Ayudante Técnico de la División Bacteriología. C.I.VET. "Miguel C. Rubino" M.G.A.P.

bras vacunadas con Cepa 19 y todas ellas eran mayores de 30 meses.

A cada animal se le asignó un número de orden con el que se identificó una muestra de sangre y los siguientes órganos: glándula mamaria, ganglio supra mamario, ganglio retrofaríngeo, ganglio submaxilar y ganglio ilíaco. Todos estos materiales acondicionados por separado fueron transportados al Laboratorio en recipientes refrigerados.

En el laboratorio: A partir de las muestras de sangre se extrajeron los sueros con los que efectuaron las siguientes pruebas: Aglutinación en Placa, Aglutinación en Tubo, Rosa Bengala, Mercaptoetanol y Fijación de Complemento. La prueba de Rosa Bengala se efectuó con placas de CARMICA (*) y un agitador nacional regulado a 14 oscilaciones por minuto.

En la prueba de Mercaptoetanol se tomó como positivo los títulos de 1/25. (9) (11). La prueba de Fijación de Complemento, se efectuó de acuerdo al método del C.D.C. (12) Se empleó como antígeno una suspensión de la cepa de *Brucella abortus* 1119 al 0.015 o/o, la incubación se efectuó durante la noche a 4°C y se interpretaron como positivos los sueros con una actividad igual a la veinticuatroava parte del SPIABA. (7) Los grupos de órganos de cada animal, fueron conservados a - 72°C hasta su procesamiento, el que ocurrió dentro de las 96 horas de extraído. Se seleccionaron aquellos órganos cuyos sueros correspondientes, fueron clasificados como sospechosos por las Pruebas de Aglutinación en Placa y Tubo; como positivas por las pruebas de Rosa Bengala y Mercaptoetanol o que presentaron título a la Fijación de Complemento. Previa inmersión en alcohol y flameado, con cada órgano se procedió de la siguiente forma: luego de eliminar la grasa periférica, se hizo un triturado con agua pep-

CUADRO 1																				
Distribución de 738 sueros a las Pruebas de Aglutinación en Placa (SAP) y de Aglutinación en Tubo (SAT)																				
S. A. P.	S. A. T uia *																			
	ST	25 l	25	50 l	50	100 l	100	200 l	200	Totales										
ST	250	33	3	2	1					289										
25 l	44	56	13	2	0					115										
25	19	35	57	19	2	1				133										
50 l	4	16	41	50	8	0				119										
50		2	3	21	16	7	1			50										
100 l			1	2	8	11	2			24										
100					1	1	2			4										
200 l						2	2			4										
200										0										
Totales	317	142	118	96	36	22	7	0	0	738										
<table style="width:100%; border:none;"> <tr> <td style="text-align:center;">709</td> <td style="text-align:center;">29</td> <td style="text-align:center;">0</td> </tr> <tr> <td style="text-align:center;">NEGATIVOS</td> <td style="text-align:center;">SOSPECHOSOS</td> <td style="text-align:center;">POSITIVOS</td> </tr> <tr> <td style="text-align:center;">(96.07 o/o)</td> <td style="text-align:center;">(3.93 o/o)</td> <td></td> </tr> </table>											709	29	0	NEGATIVOS	SOSPECHOSOS	POSITIVOS	(96.07 o/o)	(3.93 o/o)		
709	29	0																		
NEGATIVOS	SOSPECHOSOS	POSITIVOS																		
(96.07 o/o)	(3.93 o/o)																			
<table style="width:100%; border:none;"> <tr> <td style="text-align:right;">706</td> <td>Negativos</td> </tr> <tr> <td></td> <td>(95.66 o/o)</td> </tr> <tr> <td style="text-align:right;">32</td> <td>Sospechosos</td> </tr> <tr> <td></td> <td>(4.39 o/o)</td> </tr> <tr> <td style="text-align:right;">0</td> <td>Positivos</td> </tr> </table>											706	Negativos		(95.66 o/o)	32	Sospechosos		(4.39 o/o)	0	Positivos
706	Negativos																			
	(95.66 o/o)																			
32	Sospechosos																			
	(4.39 o/o)																			
0	Positivos																			

* Unidades Internacionales Aglutinantes.

tonada (10 partes a 1), se centrifugó regrigeradamente a 6000 gr. durante 10 minutos y el sedimento se suspendió en cantidad suficiente de agua peptonada para realizar el cultivo. Se sembró 0.1 ml. en e placas de Agar Dextrosa suero con inhibidores (5), dos de las cuales se incubaron en 10 o/o de CO₂ y dos en aerobiosis. Se empleó una cepa de *Brucella abortus* biotipo 1 como testigo en cada serie de cultivos. La temperatura de incubación fue de 37°C durante 7 días.

RESULTADOS:

Las 1280 placas sembradas con los 320 materiales correspondientes a los 64 sueros seleccionados por el criterio anteriormente expuesto, fueron todas negativas a *Brucella abortus*

Los resultados de las Pruebas de Aglutinación en Placa y Tubo, se muestran en el cuadro 1, la prueba en Tubo sobre 738 sueros indica 709 (96.07 o/o) como negativos y a 29 (3.93 o/o) como sospechosos; la prueba en Placa muestra a 706 (95.66 o/o) como negativos y a 32 (4.39 o/o) como sospechosos. Ambas no detectan ningún suero positivo.

Del os 738 sueros, 421 (57.05 o/o) y 449 (60.84 o/o) presentan título aglutinante a las pruebas de Tubo y Placa respectivamente. Al comparar los títulos obtenidos para cada suero mediante ambas pruebas, se observan que coinciden sólo 442 (59.89 o/o).

En el cuadro 2, se muestra la distribución de los 738 sueros a las pruebas de Aglutinación en Placa y Rosa Bengala. Se señalan además, dos sueros positivos al Rosa Bengala y Mercaptoetanol, uno de los cuales también fue positivo a la Fijación de Complemento. Todos los restantes sueros fueron negativos al Mercaptoetanol y a la Fijación de Complemento.

DISCUSION:

Ante el hecho de que solamente dos sueros resultaron positivos a la Prueba del Mercaptoetanol, de los cuales uno de ellos también resultó positivo a la prueba de Fijación de Complemento y que además no se obtuvie-

CUADRO 2			
Distribución de 738 sueros a las pruebas de aglutinación en placa (SAP) y Rosa Bengala (RB).			
S A P	R B		TOTAL
	+	-	
ST	0	289	289
25 l	1	114	115
25	4	129	133
50 l	7	112	119
50	13*	37	50
100 l	13	11	24
100	1	3	4
200 l	3**	1	4
200	0	0	0 *
TOTAL	42	696	738
PORCENTAJE	5.69	94.31	100.00
<p>* Un suero fue positivo al Mercaptoetanol y negativo a Fijación de Complemento.</p> <p>** Suero fue positivo al Mercaptoetanol y Fijación de Complemento.</p> <p>*** Unidades Internacionales Aglutinantes.</p>			

ron cultivos positivos usando métodos bacteriológicos de sensibilidad conocida, nos sugiere que de existir la infección brucélica en dicha población, presentaría una tasa baja.

Tanto las pruebas de Aglutinación en Placa como en Tubo, no identifican ningún suero como positivo, sin embargo alrededor del 60 o/o de las muestras presentan títulos aglutinantes (rango 25 l a 200 l) y aproximadamente un 5 o/o se clasifican como sospechosos.

Basándonos en lo expuesto anteriormente, interpretamos que al menos el 99.5 o/o de los títulos aglutinantes encontrados obedecen a anticuerpos residuales de vacunación. (Cuadros 1 y 2). Probablemente la vacunación cercana a la madurez sexual y las dosis "altas" de Cepa 19 empleadas, (2) (14) (15) condicionan dicho comportamiento, ya que en terneras vacunadas por debajo de los 6 meses se observa que a la edad de dos años la tasa de sospechosas es menor del 0.5 o/o y no 10 veces superior como en nuestro caso. (6).

Otro hecho a señalar aparte de la falta de sensibilidad y especificidad de las pruebas de Aglutinación (9) (10) (11) (13) son las discrepancias que se observan entre los títulos obtenidos con una u otra prueba. Estas diferencias son poco apreciables cuando se comparan poblaciones y se clasifican los sueros en negativos, sospechosos y positivos obteniéndose resultados similares.

En Latinoamérica se ha recomendado el empleo de la Prueba en Tubo como complemento de la Prueba en Placa. Consideramos que ambos procedimientos son aplicables en áreas donde no se vacune con Cepa 19 pero de ninguna manera en poblaciones similares a la estudiada.

En trabajos anteriores y en el presente, la prueba en Tubo no aportó ninguna información de utilidad por lo que pensamos que dichas pruebas de diagnóstico, deben apartarse de la rutina y emplearse la prueba de Aglutinación en Placa en toros o en estudios de predios problemáticos.

La prueba de Rosa Bengala (12) (cuadro 1) también es muy influenciada por la vacunación con Cepa 19 y se ha encontrado un alto porcentaje de falsos positivos. (7) En el presente trabajo no se aisló *Brucella abortus* de los animales R.B. positivos y sólo uno de ellos resultó positivo a la Fijación de Complemento. Sin embargo dada la alta sensibilidad de esta prueba es muy útil como procedimiento de descarte y que los sueros positivos sean sometidos a pruebas como Fijación de Complemento, Mercaptoetanol y Rivanol. (9) (10) (11) (13)

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES:

- 1 Que una tasa superior al 99 o/o de los títulos aglutinantes que se detectan (< 200 u.i.a. en hembras adultas ("boca llena") de razas de carne, obedece a anticuerpos residuales de vacunación.
- 2 Que las pruebas de Aglutinación (Placa y Tubo) deben descartarse del diagnóstico de rutina.
- 3 Que la prueba de Tubo como complemento de la prueba en Placa, no presenta ninguna utilidad y sí un mayor consumo de tiempo y material.
- 4 Que la prueba del Rosa Bengala, puede emplearse

en el diagnóstico de rutina siempre que se complemente con pruebas serológicas más específicas.

5. Que la tasa de infección brucélica que sugiere este trabajo cae dentro de las cifras de la prevalencia estimada.
6. Que debe estudiarse la posibilidad de reducir la dosis de la vacuna Cepa 19 y que en lo posible, no se vacunen animales mayores de 6 meses.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1 — ALTON, G.G.; JONES, J.M. and PIETZ, D.E. Laboratory Techniques in Brucellosis. 2nd. ed. Ginebra. World Health Organization, 163 pp. 1975.
- 2 — ALTON, G.G.; CORNER, L.A. and PLACKETT, P. Vaccination of Pregnant cows with low doses of *Brucella abortus* strain vaccin. *Acert. Vet. J.* 56, 369-372, 1980.
- 3 — COMMUNICABLE DISEASE CENTER. Standardized Diagnostic Complement Fixation Method and Adaptation to Micro Trest. Public. Health Monograph Nº 74, 1965 33 pp.
- 4 — BERMUDEZ, J.; BARRIOLA, J.; DEL BAGLIVI, L. Brucellosis en el Uruguay. *Veterinaria* 14 (66): 33-41 1977.
- 5 — BERMUDEZ, J.; BARRIOLA, J.; LABORDE, M., DEL BAGLIVI, L. Búsqueda de *Brucella suis* en suinos del Uruguay. *Veterinaria* 12, 131-135, 1976.
- 6 — BERMUDEZ, J. y BARRIOLA, J. Comunicación personal, 1978.
- 7 — BERMUDEZ, J. y BARRIOLA, J. Comportamiento de Pruebas Serológicas en el Diagnóstico de la Brucellosis Bovina en el Uruguay. En preparación, 1983.
- 8 — HECK, F.C. Comparison of serological methods for the detection of *Brucella abortus* antibodies in sera from vaccinated and non-vaccinated cattle. *J. Hyg. Camb.* 83: 491-499, 1979.
- 9 — MYLREA, P.J. The Diagnosis of Brucellosis in Dairy Herds. *Aust. Vet. J.* 48: 369-375, 1972.
- 10 — MYLREA, P.J. and FRASER, G.C. The use of supplementary test in the Serological Diagnosis of Bovine Brucellosis. *Aust. Vet. J.* 52: 261-266, 1976.
- 11 — NICOLETTI, P. and MURASHI, B.S. Bacteriologic Evaluation of Serological Test Procedures for Diagnosis of Brucellosis in Problem Herds. *Am. J. Vet. Res.* 27: 689-694, 1966.
- 12 — NICOLETTI, P. Utilization of the Card Test in Brucellosis Eradication. *J.A.V.M.A.* 151: 1778-1783, 1967.
- 13 — NICOLETTI, P. Further Evaluation of Serologic Test Procedures Used to Diagnose Brucellosis. *Am. J. Vet. Res.* 30: 1811-1816, 1969.
- 14 — NICOLETTI, P. et al. Adult vaccination with standard and reduced doses of *Brucella abortus* strain 19 vaccine in a dairy herd infected with Brucellosis. *J.A.V.M.A.* 173: 1445-1449, 1978.
- 15 — NICOLETTI, P. et al. Comparison of the subcutaneous and conjuntival route of faccination with *Brucella abortus* strain 19 vaccine in adult cattle. *J.A.V.M.A.* 173: 1450-1456, 1978.