

## COMPORTAMIENTO DE PRUEBAS SEROLOGICAS EN EL DIAGNOSTICO DE LA BRUCELOSIS BOVINA EN EL URUGUAY

Bermúdez, J. Barriola, J. \*

### RESUMEN:

Se procesan 20.665 sueros de bovinos hembras mayores de 20 meses vacunados con cepa 19 por las pruebas de R.B. y S.A.P. Los resultados de la prueba de S.A.P. concuerdan con estudios previos de prevalencia. La prueba de R.B. mostró 5.52 % de resultados positivos.

De acuerdo a los resultados de la prueba de R.B. se seleccionaron 1.697 sueros para someterlos a las pruebas de F.C., M.E. y S.A.T.

En sueros R.B. negativos se encontró una estrecha asociación con la F.C., no así en los positivos ya que sólo 16.53 % resultaron positivos a la misma y el 23.5 % fueron positivos al M.E.

Las pruebas de S.A.T. y S.A.P. presentaron resultados similares frente a la F.C. y en estudios de población, no así en sueros individuales ya que sólo el 30.15 % coinciden en los títulos.

Las pruebas de F.C. y M.E. tomando niveles diagnósticos de 1/25 positivo y 1/25 I sospechoso a la prueba de M.E., mostraron estrecha asociación en los sueros sin título y con título de 1/40 a la prueba de F.C., en los sueros de títulos 1/5, 1/10 y 1/20 esa relación se hace más amplia.

Se discuten los resultados obtenidos y se dan recomendaciones a seguir en el diagnóstico e investigación de la Brucelosis Bovina en el Uruguay.

#### Palabras Claves:

**BRUCELOSIS, BOVINOS, TECNICAS SEROLOGICAS**

Veterinaria 19 (84) 29-35, Mayo-Agosto 1983

### SUMMARY:

The authors carried out Rose Bengal (R.B.) test and Serum Agglutination Plate (S.A.P.) test on 20.665 bovine serum samples. The R.B. test showed 5.52 % positive reactors; the S.A.P. disclosed 0.84 % positive and 5.52 % suspicious reactors.

The Complement Fixation (C.F.), Mercapto-aethanol (M.E.) and Serum Agglutination Tube (S.A.T.) tests were carried out on 1697 selected sera. Only 0.42 % of R.B. negative sera were positive to the (C.F.) test of the R.B. positive sera 16.5 % were positive to the C.F. test and 23.5 % to the M.E. test.

The S.A.P. and S.A.T. test showed the same behavior when they were compared with the C.F. test. However the results were dissapointing when we compared sera with titers to one test or both.

An agreement of 83 % between sera with C.F. titer or 1/40 and positive sera to M.E. test was found. Sera without C.F. titer and negative sera to M.E. test also agree in 97 %. A wider relationship was found at 1/10 and 1/20 C.F. titers.

The results are discussed and the authors suggest a diagnostic procedure and propose lines of investigation for Bovine Brucellosis in Uruguay.

#### Key Words:

**BRUCELOSIS, CATTLE, SEROLOGICAL TECHNIQUES**

Veterinaria 19 (84) 29-35, Mayo-Agosto 1983

### INTRODUCCION:

El diagnóstico de la Brucelosis Bovina ha progresado en los últimos años como resultado del desarrollo de nuevas técnicas serológicas y del estudio de las inmunoglobulinas antibrucélicas resultantes de vacunación o de infección. (1) (4) (6) (7) (11) (13) (16) (20) (21) (22)

Las pruebas de fijación de complemento y Mercaptoetanol son las que mejor se han comportado en la detección de animales infectados (2) (11) (23)

\* Médicos Veterinarios. Técnicos del C.I.VET. "Miguel C. Rubino". Ruta 8, Brigadier General Juan A. Lavalleja, Km. 29, Pando, Casilla de Correo 6577, Montevideo.

\*\* Calculado en base a los datos de la encuesta (1972-1973) tomándose ganado de carne y leche como un universo.

(24) (25) (26) (28) (30) aunque para algunos autores no existe prueba alguna que empleada sólo sea satisfactoria. (7) (24) (25)

Las pruebas de seroaglutinación en Placa y Tubo no identifican con eficacia animales infectados. (2) (11) (24) (25) (27) (28) (30)

Sin embargo el antígeno aglutinante de Rosa Bengala guarda una estrecha asociación con el aislamiento y la Fijación de Complemento, siendo muy útil dada la simplicidad de la prueba para seleccionar sueros positivos a ésta. (2) (20) (23) (27) (36) En áreas de baja prevalencia y con vacunación masiva a cepa 19 el inconveniente de dicha prueba es la aparición de falsos positivos lo que hace necesaria su complementación. (2) (11) (16) (20) (24) (27) (29) Debido a esto se recomienda el estudio de dichas pruebas en condiciones regionales antes de adoptarlas en el diagnóstico. (2) (11) (27)

En el Uruguay con una prevalencia menor del 1 % de positivos y un 5 % de sospechosos (5) (\*\*), lleva

18 años de vacunación obligatoria a cepa 19, habiéndose alcanzado coberturas de vacunación cercana al 90 %, utilizándose como prueba diagnóstica la aglutinación en placa y en un número limitado de sueros la aglutinación en tubo, las que como se dijo no son las más eficaces, no existiendo información alguna sobre el comportamiento de pruebas como Rosa Bengala, Mercaptoetanol y Fijación de Complemento.

El objetivo del presente trabajo es evaluar el comportamiento de las pruebas de Rosa Bengala, Fijación de Complemento, Mercaptoetanol y Aglutinación en Tubo y Placa en sueros bovinos del país, con el propósito de adoptar un criterio diagnóstico aplicable a las futuras etapas de control y erradicación.

## MATERIAL Y METODO:

**Muestra:** Se analizaron 20.665 sueros provenientes de bovinos hembras vacunados con cepa 19 según las disposiciones reglamentarias (5) y clasificados por su edad de acuerdo a tabla dentaria (2, 4 y 6 o más dientes), remitidos por Veterinarios para efectuar diagnóstico de Brucelosis, demorando entre 24 y 48 horas en arribar al Laboratorio, siendo en su mayoría enviados sin refrigerar.

Además de los sueros enunciados, se incluyen en la muestra 251 con título a las pruebas de aglutinación en placa y/o tubo computándolas en la comparación entre ambas pruebas. (\*)

**Técnicas serológicas:** Se practicaron las siguientes pruebas: Seroaglutinación en placa (S.A.P.) (8), Rosa Bengala (R.B.) (10), seroaglutinación en tubo (S.A.T.) (8), Prueba de Mercaptoetanol (M.E.) (10) y Fijación de Complemento (F.C.). Para la prueba de F.C. se siguió la técnica del C.D.C. adoptada a Brucelosis por el Centro Panamericano de Zoonosis. (12) Para la prueba de Rosa Bengala se emplearon placas de cármica (\*\*) y agitador mecánico de fabricación nacional regulado a 14 oscilaciones por minuto.

En la interpretación de la prueba de M.E. se siguieron 2 criterios:

a) Título significativo de infección, tomándose como positivo un título de 1/25 (27) y como sospechoso 1/25 l. (24)

b) Persistencia del título obtenido con S.A.T. y en el suero tratado con 2 Mercaptoetanol.

Para la prueba de F.C. se usó antígeno para la prueba de S.A.T. (suspensión de cepa 1119.3 al 4.5 %) diluido 1/300, diluciones de 1/5, 1/10, 1/20, 1/40 de los sueros problemas y fijación en frío 24 horas a 4° C.

Con dicha técnica el segundo suero Patrón Internacional y el "3er. British Anti-Brucela Abortus Serra" da un título final de 1/480.

Para la interpretación de la prueba se siguió el siguiente criterio que se expresa en el cuadro que sigue. (2) (11) (18)

DILUCION SUERO PROBLEMA	ACTIVIDAD CON RESPECTO AL SUERO PATRON	BOVINO HEMBRA VACU- NADO CON CEPAS 19*** 20 MESES	BOVINO HEMBRA NO VACUNADO
1/5	1/96	Negativo	Sospechoso
1/10	1/48	Sospechoso	Positivo
1/20	1/24	Positivo	Positivo
1/40	1/12	Positivo	Positivo

**Procesamiento de la muestra:** Se procesaron 20.665 sueros mediante las pruebas de R.B. y S.A.P.

De acuerdo a los resultados de la prueba R.B. se eligieron 694 sueros R.B. positivos y 1.003 negativos, que representaban el 60.82 % y 5,14 % respectivamente de cada categoría, dichos sueros se conservaron a -70° C hasta la realización de las pruebas de F.C., M.E., y S.A.T., 251 sueros fueron solamente procesados por las pruebas de S.A.P. y S.A.T.

En la evaluación de las pruebas serológicas se tomó como patrón la prueba de F.C.

**Análisis estadístico:** Los resultados de cada suero

se computaron en tarjetas perforadas (\*) para facilitar la clasificación de los resultados.

Se efectuó prueba de Chi<sup>2</sup> en 618 sueros R.B. positivos, discriminados por edad y título a la F.C.

En 1237 sueros se efectuó la media geométrica y desviación standard de los títulos a las pruebas de S.A.T. y S.A.P. La media geométrica se calculó en base a los títulos aglutinantes, en el caso de aglutinaciones incompletas se tomó un valor medio entre los títulos correspondientes a las diluciones inmediatas superior e inferior respectivamente.

**Resultados:** En el Cuadro 1 se muestran los resultados de 20.665 sueros a las pruebas de R.B. y S.A.P., 5,52 % son positivos a la prueba de R.B., 0,83 % positivos y 5,68 % sospechosos a la prueba de S.A.P.

**CUADRO 1. RESULTADOS DE 20.665 SUEROS A LAS PRUEBAS DE ROSA BENGALA Y SERO AGLUTINACION EN PLACAS.**

ROSA BENGALA	SUERO AGLUTINACION EN PLACAS			T O T A L E S
	NEGATIVOS	SOSPECHOSOS	POSITIVOS	
—	18.830	680	14	19.524 (94.48 %)
+	489	495	157	1.141 (5.52 %)
<b>T O T A L E S</b>	19.319 (93.49 %)	1.175 (5.68 %)	171 (0.83 %)	20.665 (100 %)

En el Cuadro 2 se muestra la distribución de 623 sueros R.B. positivos a las pruebas de S.A.P. y F.C., 16,53 % fueron positivos y el 17,34 % sospechosos a la prueba de F.C. En 178 sueros que eran negativos a la prueba de S.A.P. pero con títulos entre 25 I.U.I. y 50 U.I., 15.17 % fueron positivos y 15.17 % sospechosos a la prueba de F.C.

**CUADRO 2. DISTRIBUCION DE 623 (\*) SUEROS ROSA BENGALA POSITIVOS FRENTE A LA SEROAGLUTINACION EN PLACA (S.A.P.) Y FIJACION DE COMPLEMENTO.**

S. A. P.	FIJACION DE COMPLEMENTO			TOTAL
	NEGATIVOS	SOSPECHOSOS	POSITIVOS	
NEGATIVOS (**)	124 (69.66 %)	27 (15.17 %)	27 (15.17 %)	178 (100 %)
SOSPECHOSOS	268 (70.52 %)	62 (16.32 %)	50 (13.16 %)	380 (100 %)
POSITIVOS	20 (30.77 %)	19 (29.33 %)	26 (40.00 %)	65 (100 %)
T O T A L	412 (66.13 %)	108 (17.34 %)	103 (16.53 %)	623 (100 %)

(\*) No se incluyen 71 sueros con actividad anticomplementaria.

(\*\*) Los sueros negativos a la S.A.P. tienen títulos desde 25 I.U.I. a 50 U.I.

Los resultados de la distribución de 596 sueros R.B. positivos a las pruebas de S.A.T. y F.C. son mostrados en el Cuadro 3, resultando que el 17.28 % de los sueros son positivos y el 17.28 % sospechosos a la F.C. En 193 sueros que eran negativos al S.A.T. pero con títulos de 25 I.U.I. y 50 U.I. el 14.51 % fueron positivos y 14.51 % sospechosos a la prueba de F.C.

**CUADRO 3. DISTRIBUCION DE 596 (\*) SUEROS ROSA BENGALA (RB) POSITIVOS FRENTE A LA SEROAGLUTINACION EN TUBO (SAT) Y LA FIJACION DE COMPLEMENTO (FC).**

S. A. T.	FIJACION DE COMPLEMENTO			TOTAL
	NEGATIVOS	SOSPECHOSOS	POSITIVOS	
NEGATIVOS (**)	137 (70.98 %)	28 (14.51 %)	28 (14.51 %)	193 (100.00)
SOSPECHOSOS	236 (68.01 %)	61 (17.58 %)	50 (14.41 %)	347 (100.00)
POSITIVOS	17 (30.36 %)	14 (25.00 %)	25 (44.64 %)	56 (100.00)
T O T A L	390 (65.44 %)	103 (17.28 %)	103 (17.28 %)	596 (100.00)

(\*) NO SE INCLUYEN: 27 Sueros no procesados y 71 con actividad anticomplementaria.

(\*\*) Los sueros negativos al SAP tienen títulos entre 25 U.I. a 50 U.I.

En el Cuadro 4 se expresan los resultados a la prueba de F.C. de 618 sueros R.B. positivos discriminados por la edad de acuerdo a la tabla dentaria, en la categoría de 6 dientes o más, el 23.31 % resultaron positivos a la prueba de F.C. y en la categoría de 2 y 4 dientes el 14.13 % y el 12.68 % positivos respectivamente, existiendo diferencias significativas entre este último grupo y el primero en su comportamiento frente a dicha prueba ( $P < 0.5 %$ ).

\* Sueros conservados en el laboratorio (C.I.VET.), a  $-70^{\circ}$  C provenientes de un muestreo de prevalencia.

\*\* Cármica M.R. laminado sintético de la melami-

na Formaldehído.

\*\*\* Vacunados de 3 a 6 meses.

(\*) Unisort Analysis Card Form y D. Burroughs Co. Todd, Div. U.S.A.

**CUADRO 4. DISTRIBUCION DE 618 (\*) SUEROS ROSA BENGALA POSITIVOS FRENTE A LA FIJACION DE COMPLEMENTO Y EDAD (EXPRESADA EN DIENTES).**

E D A D	FIJACION DE COMPLEMENTO			T O T A L
	NEGATIVOS	SOSPECHOSOS	POSITIVOS	
6 y más dientes	101 (52.33 %)	47 (24.35 %)	45 (23.31 %)	193 (100 %)
4 dientes	106 (71.14 %)	25 (16.78 %)	18 (12.08 %)	149 (100 %)
2 dientes	202 (73.19 %)	35 (12.68 %)	39 (14.13 %)	276 (100 %)
<b>T O T A L</b>	409 (66.18 %)	107 (17.31 %)	102 (16.50 %)	618 (100 %)

(\*) No se incluyen: 5 sueros por no conocerse la edad y 71 por ser anticomplementarios. La diferencia entre positivos y/o sospechosos de 6 y más dientes con respecto a los de las categorías de 2 y 4 dientes es significativa estadísticamente ( $P = < 0.5 \%$ ).

En el Cuadro 5, se muestra la distribución de 662 sueros R.B. positivos frente al M.E. discriminados por edad.

**CUADRO 5. DISTRIBUCION DE 662 (\*) SUEROS ROSA BENGALA POSITIVOS FRENTE A LA PRUEBA DE MERCAPTOETANOL Y EDAD (EXPRESADO EN DIENTES).**

E D A D	NEGATIVOS	POSITIVOS	T O T A L
6 dientes	156 (72,95 %)	58 (27,05 %)	214 (100 %)
4 dientes	192 (79,01 %)	51 (20,99 %)	243 (100 %)
2 dientes	158 (77,08 %)	47 (22,92 %)	205 (100 %)
<b>T O T A L</b>	506 (100,0 %)	156 (23,56 %)	662 (100 %)

(\*) No se incluyen 32 sueros no procesados en la prueba de Mercaptoetanol.

Al comparar 1237 sueros con título a las pruebas de S.A.P. y/o S.A.T., se observa que sólo el 30.15 % coinciden en los títulos, mientras que el 9,3% coinciden más menos la dilución inmediata superior o inferior. La media geométrica en la prueba de S.A.P. fue de 31 U.I. y de 27 U.I. en la prueba de S.A.T., siendo las desviaciones standard respectivamente de 3.5 U.I. y 4 U.I. La suma de positivos y sospechosos en la S.A.P. fue de 30.71 % y 31.11 % en la S.A.T. y los reactores positivos 4.52 % y 3.79 % respectivamente.

Los resultados de 1498 sueros a las pruebas de M.E. (tomando 1/25 como positivo) y la F.C. se muestran en el Cuadro 6. En él se observa que en sueros sin título a la F.C., 97.88 % dieron negativo al M.E. y en los con título 1/40, el 83.33 % dio positivo al M.E. En los sueros con título de 1/5, 1/10 y 1/20 a la F.C., la relación fue menos estrecha entre ambas pruebas. Con respecto a la persistencia del título en el suero tratado con 2 Mercaptoetanol, se encuentra una relación amplia.

**CUADRO 6. DISTRIBUCION DE 1498 (\*) SUEROS A LAS PRUEBAS DE MERCAPTOETANOL Y FIJACION DE COMPLEMENTO.**

FIJACION DE COMPLEMENTO	M E R C A P T O E T A N O L (**)			T O T A L
	S. T.	25 I (**)	25 y > 25 (**)	
S. T. (***)	1152 (97.88 %)	5 (0.42 %)	20 (1.70 %)	1177 (100 %)
1:5	81 (80.20 %)	3 (2.97 %)	17 (16.83 %)	101 (100 %)
1:10	77 (63.64 %)	13 (10.74 %)	31 (25.62 %)	121 (100 %)
1:20	28 (49.12 %)	6 (10.53 %)	23 (40.35 %)	57 (100 %)
1:40	6 (14.29 %)	1 (2.38 %)	35 (83.33 %)	42 (100 %)
<b>T O T A L</b>	1344 (89.72)	28 (1.87)	126 (8.41)	1498 (100.00)

(\*) No se incluyen 122 por anticomplementarios y 77 que no fueron procesados.

(\*\*) Recíproca del título.

(\*\*\*) S. T. = Sin título.

En el Cuadro 7, se muestran los resultados de 952 sueros R.B. negativos a las pruebas de S.A.P. y F.C., 4 sueros resultaron positivos y 19 sospechosos a la prueba de F.C. De los 4 sueros positivos a la F.C. 3 eran negativos (25 I.U.I. y 50 U.I.) y 1 sospechoso (100 U.I.) a la prueba de S.A.P. En los 19 sueros sospechosos 11 resultaron sospechosos y 8 negativos a la prueba de S.A.P.

**CUADRO 7. DISTRIBUCION DE 952 (\*) SUEROS ROSA BENGALA NEGATIVOS FRENTE A LA SEROAGLUTINACION EN PLACA Y FIJACION DE COMPLEMENTO.**

S. A. P.	FIJACION DE COMPLEMENTO			TOTAL
	NEGATIVOS	SOSPECHOSOS	POSITIVOS	
NEGATIVOS (**)	778	8	3	789
SOSPECHOSOS	145	11	1	157
POSITIVOS	6	—	—	6
<b>TOTAL</b>	<b>929</b>	<b>19</b>	<b>4</b>	<b>952</b>

(\*) No se incluyen 51 sueros con actividad anticomplementaria.

(\*\*) 48 con títulos entre 25 I u.i.a. y 50 u.i.a.

Los resultados de 927 sueros R.B. negativos a las pruebas de S.A.T. y F.C. se expresan en el Cuadro 8. De los 4 sueros positivos a la F.C., 2 eran negativos y 2 sospechosos a la prueba de S.A.T., en los 19 sospechosos a la F.C., 13 eran sospechosos y 6 negativos a la S.A.T.

**CUADRO 8. DISTRIBUCION PORCENTUAL DE 927 (\*) SUEROS ROSA BENGALA NEGATIVOS FRENTE A LA SEROAGLUTINACION EN TUBO Y FIJACION DE COMPLEMENTO.**

S. A. T.	FIJACION DE COMPLEMENTO			TOTAL
	NEGATIVOS	SOSPECHOSOS	POSITIVOS	
NEGATIVOS (**)	811	6	2	819
SOSPECHOSOS	93	13	2	108
POSITIVOS	—	—	—	—
<b>TOTAL</b>	<b>904</b>	<b>19</b>	<b>4</b>	<b>927</b>

(\*) No se incluyen 51 sueros con actividad anticomplementaria y 25 no procesados.

(\*\*) 148 tienen títulos entre 25 I.U.I. y 50 U.I.

En los 1697 sueros trabajados por la prueba de F.C. se encontraron 7.19 % de anticomplementarios, este porcentaje osciló en el año, llegando a 0.5 % cuando las muestras se envían refrigeradas. El fenómeno de zona se presentó en el 0.41 % de los sueros trabajados.

**Discusión:** En los 20.665 sueros la prueba de R.B. detectó 5.52 % de reactores positivos mientras que la prueba de S.A.P. un 0.83 % de positivos y un 5.68 % de sospechosos.

Estas cifras concuerdan con las del muestreo de prevalencia realizado en 1972 que arroja resultados similares. (5)

Los sueros procesados por las pruebas de S.A.T., M.E. y F.C., responden a un muestreo de conveniencia ya que se seleccionaron de acuerdo a nuestra capacidad de procesamiento. Así se tomaron el 60.82 % de los sueros R.B. positivos y el 5.41 % de los negativos para someterlos a las pruebas antes nombradas.

En los sueros reaccionantes al R.B., el 16.50 % fueron positivos y el 17.31 % sospechosos a la F.C., encontrando que dicha relación era más estrecha en sueros de bovinos de 6 dientes y mayores que en sueros de bovinos de 2 y 4 dientes. Si bien esta diferencia es significativa ( $P < 0.5$ ), todos los resultados deben barajarse con cautela puesto que la muestra no fue tomada al azar.

Diversos autores que han estudiado las relaciones de positividad entre ambas pruebas las han encontrado más estrechas (2) (16) (20) (24) (25) incluso en animales vacunados tardíamente. (14) En U.S.A. en áreas con baja prevalencia y alta cobertura de vacunación —nuestra situación— la aparición de falsos positivos a la prueba de R.B., limitaría la misma al rol de "Screening". (27) (29) (30) Por otra parte la F.C. es poco influenciada por la vacunación a cepa 19, (29) (41) ya que incluso bovinos vacunados cuando adultos se vuelven negativos en 6 meses. (18) (30) Todo esto nos lleva a sugerir que en nuestro caso la baja relación entre estas dos pruebas se debería a la aparición de falsos positivos resultantes de vacunaciones tardías hecho que, en parte, también ha sido comprobado por otros autores. (30)

La prueba de F.C. fue tomada como patrón en la evaluación de las otras pruebas, ya que de acuerdo a varios autores es la que detecta con mayor certeza animales con cultivo positivo. (2) (23) (24) (25) (26) (28) Una limitante para la aplicación de la misma en nuestras condiciones es la aparición de

sueros con actividad anticomplementaria (7 %), hecho que vinculamos a malas condiciones de remisión, ya que en muestras refrigeradas no llega al 0.5 %. Por otra parte las técnicas de fijación en frío están más sujetas a la aparición de sueros anticomplementarios que las de fijación en caliente. (2)

El fenómeno de zona se presentó sólo en el 0.4 % de los 1697 sueros procesados siendo su aparición más frecuente cuando se usa fijación en caliente (2) (22); no siendo dicho porcentaje una limitante para el uso de dicha prueba.

Las pruebas de S.A.P. y S.A.T., tienen un comportamiento similar frente a la F.C. (cuadros 2 y 3). Sueros R.B. positivos enfrentados a las pruebas de S.A.P. y S.A.T. y que resultaban negativos a éstas, el 15.17 % y el 14.51 % resultan positivos y el 15.17 % y 14.51 % resultan sospechosos a la F.C., esto indica que ambas pruebas son menos eficaces que el antígeno R.B. en seleccionar sueros positivos a la Fijación de Complemento, debido posiblemente a que detectan diferentes tipos de anticuerpos. (16) Comportamientos similares han sido comunicados por otros autores empleando la prueba de aglutinación en tubo británica. (2) (14) (22) (23)

Morgan, (23) Nicoletti y Muraschi, (26) y Nicoletti (28), comunican que ambas pruebas de aglutinación detectan sólo alrededor del 60% de animales con cultivos positivos, trabajos australianos también cuestionan la poca eficacia de la prueba de S.A.T. (25). Al comparar las pruebas de aglutinación S.A.P. y S.A.T. entre sí, en 1237 sueros trabajados con título a una, a otra o ambas pruebas con respecto a una escala arbitraria, se observó que sólo el 30.15 % coinciden en sus títulos, el 48.02 % discrepan en medio punto, el 14.79 % discrepan en un punto y el 7.04 % discrepan en más de un punto respectivamente, resultado que no hemos observado cuando se comparan sueros sin título a cualquiera de éstas, ya que se encontró una coincidencia cercana al 100 % (\*), estudios realizados por autores japoneses también han encontrado discrepancia entre estas dos pruebas. (31)

En las pruebas de S.A.P. y S.A.T. si bien hay discrepancias en los títulos de estas dos pruebas en sueros estudiados individualmente, su comportamiento frente a una población son superponibles, lo que indica que en un estudio de prevalencia los resultados serían similares utilizando una u otra prueba. Esto nos lleva a afirmar que en nuestras condiciones la prueba de S.A.T. como complemento del S.A.P. no mejoraría la eficiencia del diagnóstico y sí mayor consumo de tiempo y equipo.

En la prueba de M.E. siguiendo a Nicoletti (26) tomamos como positivo un título aglutinante de 1/25 y como sospechosos una aglutinación incompleta a 1/25, este título representaría aproximadamente 1/25,5 valor que sería aproximado al dado por Milrea. (25)

El 23,5 % de los sueros R.B. Positivos lo es también al M.E. resultado acorde con los obtenidos al comparar R.B. vs. F.C. aunque se observa, una mayor relación de positividad, lo que indicaría menor especificidad de la prueba de M.E. Cuando comparamos esta prueba con la F.C. teniendo en cuenta un título diagnóstico, se observa que sueros con título de 1/40 o sin título a la F.C., guarda una estrecha relación con el M.E., no así en los títulos intermedios de 1/5, 1/10 y 1/20, siendo estos resultados similares a los hallados por Milrea. (25)

En los sueros R.B. negativos encontramos una estrecha asociación con la prueba de F.C., ya citados por otros autores, (16) (20) (22) (23) (24) ya

(\*) Bermúdez, J. y Barriola, J., 1974. Comprobación personal.

que en 1003 sueros sólo 4 (0,42 %) dieron positivos a la F.C., estos sueros tampoco fueron detectados por las pruebas de S.A.P. y S.A.T., resultados similares son reportados por Morgan. (23) Este hecho nos reafirma a pensar que la exclusión de estas pruebas en el diagnóstico de rutina no afectaría su eficiencia ya que tampoco detectan los falsos negativos del R.B.

## CONCLUSIONES:

Los resultados obtenidos nos permiten establecer las siguientes conclusiones:

1. Se puede estimar la prevalencia de la Brucelosis Bovina determinada con la prueba de R.B. en un valor cercano al 5.5 %.
2. La prueba de R.B. en áreas donde se vacuna con cepa 19, es más efectiva que las pruebas de S.A.P. y S.A.T. para detectar sueros positivos a la prueba de F.C., con un mínimo de tiempo y labor.
3. Dicha prueba puede sustituir a la prueba de S.A.P. siempre que los sueros positivos sean sometidos a una prueba como la F.C. y/o Mercaptoetanol.
4. Es de gran valor la vacunación temprana (3 a 6 meses) de los bovinos hembras con el fin de que los títulos residuales de vacunación no interfieran en los resultados de las pruebas serológicas.
5. Para la utilización de la prueba de F.C., los materiales se deben remitir refrigerados, ya que los sueros anticomplementarios limitan su uso.
6. La prueba de M.E. sería también aconsejable realizarla en los sueros anticomplementarios y sospechosos a la F.C.
7. En la interpretación de la prueba de M.E. se debe considerar un nivel diagnóstico, dado que su comprensión teniendo en cuenta la variación de los títulos con respecto a la prueba de S.A.T., es muy difícil.
8. La prueba de S.A.T. usada como complementación del S.A.P. no mejora la eficiencia del diagnóstico.
9. Estos resultados son preliminares y las técnicas usadas deben ser evaluadas bacteriológicamente con el fin de adoptar un criterio diagnóstico.

## AGRADECIMIENTO:

Se agradece la colaboración de los Ayudantes Técnicos, Sra. Daysi Buchelli de Vega y Sres. Eduardo Durán y César Cabrera quienes hicieron posible la realización de este trabajo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. ALLAN, G. S. et al. — A quantitative comparison of the sensitivity of serological tests for Bovine Brucellosis to different antibody classes. J. Hyg. Camb. 76: 287-298, 1976.
2. ALTON, G. G. et al. — The Serological Diagnosis of Bovine Brucellosis on evaluation and Rose Bengal Tests. Aust. Vet. J. 51: 57-63, 1975.
3. ALTON, G. G., JONES, L. M. and PIETZ, D. E. Laboratory Techniques in Brucellosis. 2nd. ed. Ginebra, World Health Organization, 1975. 163 p.
4. BEH, K. J. — A quantitative distribution of Brucella antibody against amongst immunoglobuline classes in vaccinated and infected cattle. Res. Vet. Sci. 17: 1-4, 1974.
5. BERMUDEZ, J., BARRIOLA, J., DEL BAGLIVI, L. — Brucelosis en el Uruguay. Veterinaria 14(66): 33-41, 1977.
6. CASAS OLASCOAGA, R. — Diagnóstico sero-

- lógico de la Brucelosis animal. Centro Panamericano de Zoonosis, 1974. Mecanografiado, 33 p.
7. CHAPPEL, R. J. *et al.* — Radioimmunoassay for antibodies against *Brucella abortus*: a neuroserological test for bovine brucellosis. *J. Hyg. Camb.* 77: 369-376, 1976.
  8. CENTRO PANAMERICANO DE ZONOSIS. — Técnicas e interpretación de las pruebas de Seroaglutinación para el diagnóstico de la Brucelosis Bovina. B. A., CPZ, 1968. 9 p. (Nota técnica No. 2, Rev. 1).
  9. CENTRO PANAMERICANO DE ZONOSIS. — Elaboración y normalización de antígenos para las pruebas de seroaglutinación de la Brucelosis. B. A., CPZ, 1971. 22 p. (Nota técnica No. 3, Rev. 3).
  10. CENTRO PANAMERICANO DE ZONOSIS. — Pruebas complementarias para el diagnóstico de la Brucelosis. Mecanografiado. 16 p., s/f.
  11. COMITE MIXTO DE FAO/OMS DE EXPERTOS EN BRUCELOSIS. — Quinto Informe. Roma, FAO/OMS, 1972. 100 p.
  12. COMMUNICABLE DISEASE CENTER. — Standardized Diagnostic Complement Fixation Method and Adaptation to Micro Test. Public Health Monograph. No. 74. 1965. 33 p.
  13. CORBEL, M. J. — Identification of the immunoglobulin class active in the Rose Bengal plate test for bovine brucellosis. *J. Hyg. Camb.* 70: 779-795, 1972.
  14. GALLAGHER, J. — The Rose Bengal Plate Agglutination Test in Dairy Cattle in Zambia vaccinated over age with strain 19 *Brucella abortus*. *Trop. Anim. Health Prod.* 5: 253-258, 1973.
  15. GRAY, M. D. and MARTIN, S. W. — An evaluation of screening programa por the detection of Brucellosis in dairy herds. *Cam. J. Comp. Med.* 44: 52-60, 1980.
  16. HECK, F. C. — Comparison of serological methods for the detection of *B. abortus* antibodies in sera from vaccinated and non-vaccinated cattle. *J. Hyg. Camb.* 83: 491-499, 1979.
  17. HECK, F. C. *et al.* — Enzyme linked Immunosorbent assay for detecting antibodies to *Brucella abortus* in bovine milk and serum. *Am. J. Vet. Res.* 41: 2082-2084, 1980.
  18. MAC KINNON, D. J. — The Complement Fixation Test in Brucellosis. *Bull-Off Int. Epiz.* 60: 383-400, 1968.
  19. MORGAN, B. W. J. — Reviews of the progress of Dairy Science Section E. Disease of Dairy cattle. Brucellosis. *J. Dairy Res.* 31: 315-359, 1964.
  20. MORGAN, B. W. J. *et al.* — The Rose Bengal Plate Agglutination Test in the Diagnosis of Brucellosis. *Vet. Rec.* 85: 636-641, 1969.
  21. MORGAN, B. W. J. — Reviews of the progress of Dairy Science Section. E. Diseases of Dairy cattle. Brucellosis. *J. Dairy Res.* 37: 303-360, 1970.
  22. MORGAN, B. W. J. — Same Recent Advances in the Diagnosis of Brucellosis. *Irish. Vet. J.* 25: 214-221, 1971.
  23. MORGAN, B. W. J. — The diagnosis, control and eradication of Bovine Brucellosis in Great Britain. *Vet. Rec.* 94: 510-517, 1974.
  24. MYLREA, P. J. — The Diagnosis of Brucellosis in Dairy Herds. *Aust. Vet. J.* 48: 369-375, 1972.
  25. 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.
  26. 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.
  27. NICOLETTI, P. — Utilization of the Card Test in Brucellosis Eradication. *J.A.V.M.A.* 151: 1778-1783, 1967.
  28. NICOLETTI, P. — Further Evaluation of Serologic Test Procedures Used to Diagnose Brucellosis. *Am. J. Vet. Res.* 30: 1811-1816, 1969.
  29. 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.
  30. NICOLETTI, P. *et al.* — Comparison of the subcutaneous and conjunctival route of vaccination with *Brucella abortus* strain 19 vaccine in adult cattle. *J.A.V.M.A.* 173: 1450-1456, 1978.
  31. NOBUTO, K. and SUTO, K. — Present situation of Brucellosis in Japan. *Bull. Off. Int. Epiz.* 73: 17-27, 1970.
  32. PAULAS, M. HONET, V. M. — Experiencia y resultados en el diagnóstico de laboratorio en la brucelosis. *Rev. Cubana Cien. Vet.* 1: 83-100, 1970.
  33. PLACKETT, B. A. and ALTON, G. C. — A mechanism for Prozone formation in the Complement Fixation Test for Bovine Brucellosis. *Am. Vet. J.* 51: 374-377, 1975.
  34. PLACKETT, P. *et al.* — The indirect haemolysis test (IHLT) for bovine brucellosis comparisons with the complement fixation test (CFT) in vaccinated and experimentally infected cattle. *Aust. Vet. J.* 56: 405-408, 1980.
  35. PILET, CH. *et al.* — Sur l'emploi du test au mercaptoethanol pour l'étude des agglutinines brucelliques. *Rec. Méd. Vét.* 145: 1155-1172, 1969.
  36. PRIOR, M. G., NIILLO, L. and REEKER, W. A. — Use of the Brucellosis Card Test for screening cattle in Saskatchewan. *Can. J. of Comp. Med.* 39: 107-109, 1975.
  37. RAYBOULD, T. J. G. and CHANTLER, S. — Serological differentiation between infected and vaccinated cattle by using purified soluble antigens from *Brucella abortus* in a hemagglutination system. *Infection and Immunity.* 29: 435-411, 1980.
  38. SNEDECOR, G. and COCHRAN, W. — Statistical methods. 6th. ed. Iowa State College Press, 1967. 593 p.
  39. U.S.D.A. — Brucellosis Eradication Recommended Uniform methods and rules. Animal and Plant Health Inspection Service U.S.D.A. APHIS 91-1, 32 p. 1975.
  40. U. S. NATIONAL DISEASE LABORATORY. — Production of Buffer Antigen (B.B.S.) for the Brewer Card Test in the Diagnostic Reagent. Mimeograph. 65 p. s/f.
  41. WORTHINGTON, R. W. *et al.* — A serological investigation on adult cattle vaccinated with *Brucella abortus* Strain 19. *Onderstepoort, J. Vet. Res.* 40: 7-12, 1973.
  42. WORTHINGTON, R. W. and HOWELL, F. D. — An investigation of the efficacy of three *Brucella* vaccines in cattle. *J. S. Afr. Vet. Ass.* 45: 87-91, 1974.