

## PROBLEMAS RELACIONADOS AL DIAGNOSTICO SEROLOGICO DE

### BRUCELLA ABORTUS

J. Barriola  
M. Laborde  
J. Bermudez

#### INTRODUCCION

Cuando se efectúan pruebas serológicas seriadas de muestras pertenecientes - a bovinos es frecuente observar ligeras oscilaciones en los títulos (6-9). - Las mismas son debidas a errores del método serológico empleado o a variaciones en las inmunoglobulinas (Ig) circulantes en el bovino, las que se podrían considerar como "normales" y que por dicho motivo Cullen (9) las denominó -- "variación fisiológica".

Sin embargo, el problema que planteamos es de otra índole. Se trata de oscilaciones transitorias de los títulos pero de tal magnitud que llegan a crear problemas de diagnóstico importantes.

El propósito del presente trabajo es comunicar el hecho presentando un caso real, estudiando su evolución y discutiendo sus posibles causas.

#### MATERIALES Y METODOS

Se muestrearon 57 vacas mayores de 20 meses los días 0 y 20, siendo procesados sus sueros en la prueba del Rosa Bengala (RB).

De dicho grupo se muestrearon 8 animales los días 30, 45 y 80 siendo procesados los sueros por las pruebas RB, Seroaglutinación en Placa (SAP), Seroaglutinación en Tubo (SAT), Mercaptoetanol (M) y Fijación de Complemento (FC).

En el montaje e interpretación de las pruebas serológicas se siguieron los procedimientos descritos por Alton, Jones y Pietz (2) y del Comunicable Disease Center (8). En la interpretación de la prueba de M se siguieron las normas - de Nicoletti y Murashi (20) y en la prueba de FC se tomaron como sospechosos aquellos sueros con una actividad de 1/48 del suero patrón, interpretándose como positivos sueros con actividades de 1/24 o mayores del suero patrón.

El día 30 se tomaron muestras de leche las que fueron centrifugadas a 2000 g. sembrándose el sedimento y la crema de cada muestra en 8 placas de agar dex-

---

\* Técnicos del Centro de Investigaciones Veterinarias "Miguel C. Rubino

trosa suero. Cuatro placas fueron incubadas a 37°C y durante 8 días en atmósfera con 10% de CO<sub>2</sub> y las otras 4 en aerobiosis a la misma temperatura y durante el mismo tiempo.

### RESULTADOS

Las 57 vacas muestreadas el día 0 resultaron negativas a las pruebas de RB, pero el día 20 se detectaron 8 animales positivos a la misma prueba ("animales problema").

Los resultados de las pruebas serológicas efectuadas en dichos animales se señalan en el cuadro 1.

Cuadro 1

#### COMPORTAMIENTO SEROLÓGICO DE LOS 8 BOVINOS "PROBLEMA"

PRUEBA SEROLOGICA	D I A S														
	0			20			30			45			80		
	N	S	P	N	S	P	N	S	P	N	S	P	N	S	P
Rosa Bengala	8	X	0	-	X	8?	1	X	7	7	X	1	7	X	1
Seroaglutinación en placa	8?	-	-	-	-	8?	2	3	3	6	2	0	7	1	0
Seroaglutinación en tubo	8?	-	-	-	-	8?	2	4	2	7	1	0	7	1	0
Fijación de complemento	8?	-	-	-	-	8?	3	2	3	6	2	0	7	1	0
Mercaptoetanol	8?	-	-	-	-	8?	3	2	3	6	2	0	7	1	0

N: Negativo

S: Sospechoso

P: Positivo

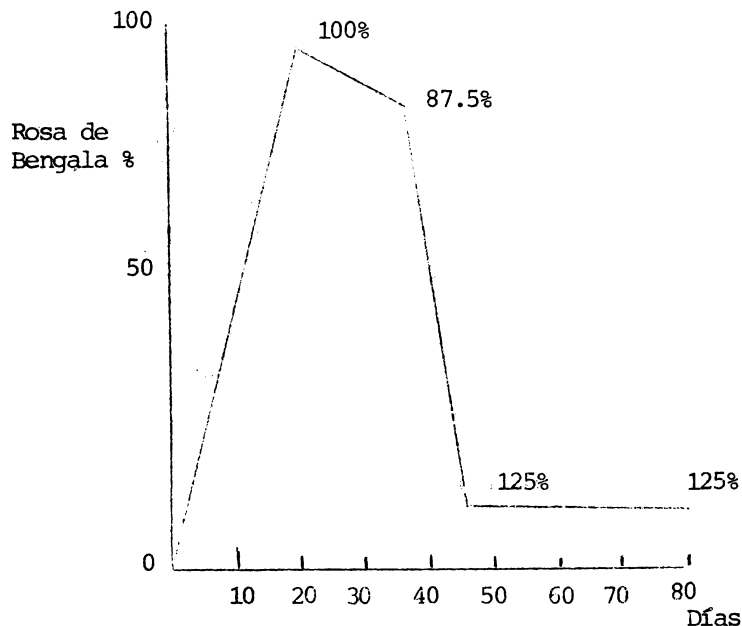
?: Comportamiento supuesto

X: No se interpreta como sospechoso

En la gráfica 1 se indica el comportamiento del grupo de "animales problema" frente a la prueba de RB.

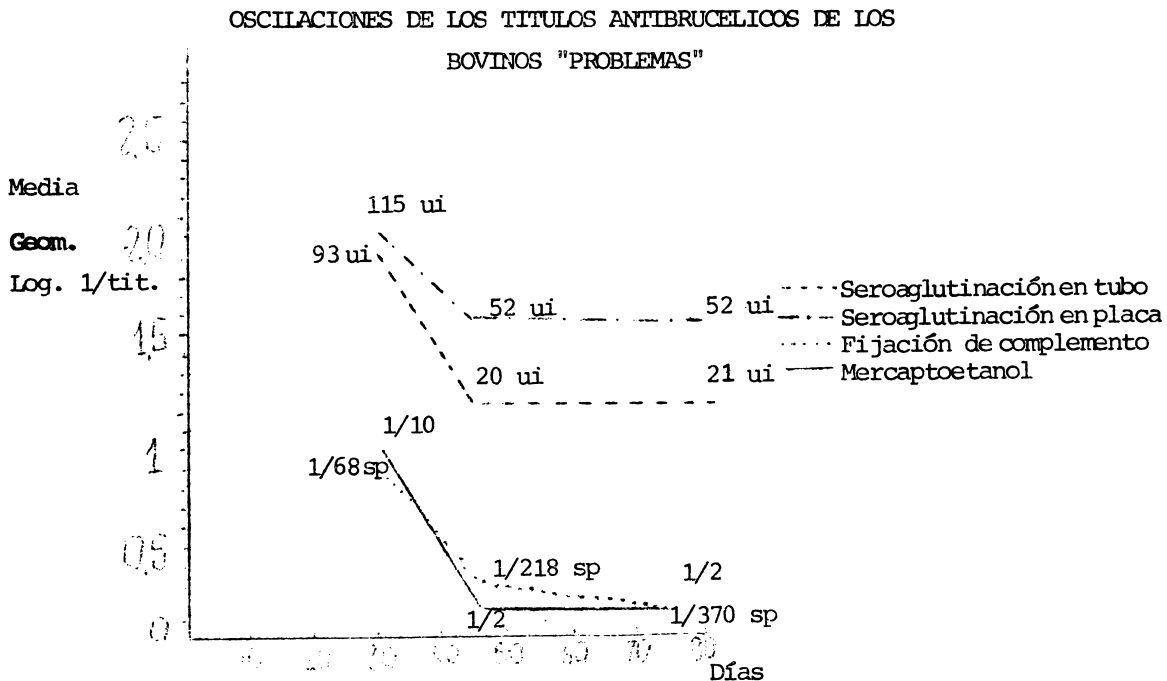
Gráfica 1

#### RESULTADOS DE LA PRUEBA DEL ROSA DE BENGALA (R.B.) de los 8 BOVINOS "PROBLEMA"



En la gráfica 2 se muestran las medias geométricas de la inversa de los títulos de las pruebas de SAP, SAT, M y FC del grupo de "animales problema".

Gráfica 2



Los cultivos de todas las muestras de leche fueron negativos.

DISCUSION

Considerando las relaciones de negatividad y de positividad existentes entre las pruebas de RB, FC y M (1-5-7-14-19-22) es posible que todos los animales sean negativos a dichas pruebas en el día 0 y que el día 20 los "animales - "problema" presenten títulos significativos de positividad a la prueba de M y FC.

El estudio del cuadro 1 así como las gráficas 1 y 2 señalan un aumento de los títulos seguidos de una caída, cuya tendencia es la negatividad, hecho diferente al que se da en la infección (3) o en la vacunación (3-22). Dicho comportamiento serológico, sumado a la ausencia de aislamiento en los cultivos efectuados a partir de leche sugiere que la causa que provocó el aumento observado no es una infección con cepas de campo de Brucella abortus. De cualquier modo, entre el día 0 y el día 20 actuó sobre el sistema inmunitario una causa que provocó dicho efecto. Esto es muy difícil de determinar, por lo tanto, las causas que planteamos y discutimos a continuación sólo se pueden barajar dentro del plan hipotético.

En el laboratorio hemos observado en algunas oportunidades discrepancias entre un mismo suero en la prueba de RB empleando diferentes operadores y/o diversos materiales como platina. En nuestro caso siempre se emplea el mismo operador para cada prueba y se usó una platina de Cámica\* para todas las pruebas. Además, hemos constatado que en casos de aparecer títulos diferentes por dichos motivos éstos fueron siempre muy ligeros y nunca positivos a las pruebas de FC y/o M.

Se ha responsabilizado que diversos factores "stressantes" tales como el transporte de los animales, cambios de alimentación, frío, etc. serían capaces de producir alteraciones en los títulos antibrucélicos. Sin embargo, en pruebas donde se ha inoculado la hormona ACTH de manera de producir artificialmente la condición de "stress", no se logró producir las alteraciones en los títulos antes mencionados. (9)

En los animales próximos a parir puede ocurrir una caída de los títulos antibrucélicos para aumentar después del parto (11-15).

\* Cámica, M. R. de laminado sintético de relamina formaldehído.

Se ha demostrado por vía experimental que microorganismos tales como Vibrio spp, Salmonella spp, Pasteurella spp y Yersinia enterocolitica pueden producir elevación de los títulos antibrucélicos. Sin embargo, este tipo de evento es muy difícil de demostrar retrospectivamente. (12-16-17)

Vacunas contra la pasteurelosis han sido responsabilizados de producir aumentos de los títulos (4-17) sin embargo, otros autores no pudieron confirmar dicho fenómeno (17). Se comprobó que las vacunas contra la fiebre aftosa no producen incremento en los títulos (18).

Drogas inmunoestimulantes tales como el tetramizol produjeron un incremento en la resistencia de las lauchas frente al desafío con B. abortus, y en terneras vacunadas con cepa 19 se obtuvieron mayores títulos séricos que el grupo control, aunque no tenemos información sobre su efecto en títulos residuales de vacunación (10-21).

El Imidocarb\* ha sido responsabilizado en nuestro medio de producir elevación de los títulos antibrucélicos, sin embargo, por la vía experimental no se pudieron demostrar dichos resultados.

Se ha observado en el país aumento transitorio de los títulos a posteriori de vacunaciones contra Babesia spp, y Anaplasma spp. A pesar de ello no se encontró relación serológica alguna entre dichos microorganismos y B. abortus (6). Al respecto cabría considerar la posibilidad que dicha vacuna cuando proviene de "dadores" no controlados puede vehiculizar B. abortus ya que la bacteriemia no es un hecho raro en dicha infección (13).

El empleo de jeringas sucias con restos de vacuna cepa 19, incluso solamente enjuagadas o hervidas o tratadas con antiséptico, es decir que no han sido correctamente lavadas, pueden vehiculizar suficiente antígeno como para producir oscilaciones de títulos en animales con títulos residuales de vacunación (9) e incluso en animales no vacunados (1). Si bien hemos observado con anterioridad casos similares al descrito, en una sola oportunidad se pudo demostrar la causa y esto fue una jeringa sucia de cepa 19.

#### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

1. Se describe un hecho biológico, la oscilación de títulos serológicos antibrucélicos, el que hemos observado en varias oportunidades y que plantea problemas de diagnóstico.
2. Como no se efectúan rutinariamente sangrías seriadas se desconoce la frecuencia con que se puede presentar este hecho.
3. Dentro de las posibles causas del problema sólo una vez se comprobó la etiología y fue la participación de jeringas sucias de vacuna de cepa 19 por lo que se recomienda una jeringa para el uso de dicha vacuna.

---

\* Imidocarb, M. R. Burrough Wellcome, del 3-3-di (2-imidazolin-2 y 1) carbanilida.

\*\*\*

## BIBLIOGRAFIA

1. ALTON, G.G. et al. The serological diagnosis of bovine brucellosis on - evaluation of the Complement Fixation serum agglutination and Rose Bengal tests. Aust. Vet. J. 61:57-63 1975.
2. ALTON, G.G., JONES, L. M. and FISTZ, D.E. laboratory techniques in brucellosis. World Health Organization Ginebra. 163 pp. 1975.
3. BEH, K.J. Quantitative distribution of Brucella antibody amongst immunoglobulin classes in vaccinated and infected cows. Res. Vet. Sci. 17: 1-4 1974.
4. BERMAN, D. T. The effect of bacterins containing Pasteurella multocida on agglutinins for Brucella in cattle. Proc. Ann. Meet. U. S. Livestock Sanit. Ass. 60:97-103 1956
5. BERMUDEZ, J. y BARRIOLA, J. Comportamiento de pruebas serológicas en el diagnóstico de la brucelosis bovina en el Uruguay. (En prensa) 1978.
6. BERMUDEZ, J., BARRIOLA, J. y MENDEZ, R. Brucella abortus: Oscilaciones de los títulos en muestras seriadas. Veterinaria (R.O.U.) (En prensa)-1979.
7. Comité Mixto FAO-OMS de Expertos en Brucelosis. Quinto Informe. FAO-OMS. Roma 1972.
8. Communicable Disease Center. Standardized diagnostic Complement Fixation Method and adaptation to microtest. Pub. Health Monograph N° 74, 34 pp. 1965.
9. CULLEN, G.A. and CORBEL, M. J. Observation on some possible causes of variation in the titre of Brucella antibodies in cattle. Vet. Rec. 87:-101-106 1970
10. LE LIEGO, I., GARCIA CARRILLO, C. y TROMPER, S. J. Influencia de los antiparasitarios sistémicos sobre aglutininas antibrucélicas. I. Aglutininas producidas por vacuna. Gaceta Vet. (R. A.) 36:164-179 1974.
11. EICHORN, A. and CRAWFORD, A. B. Brucellosis Bovina. Unión Panamericana Oficina de Cooperación Agrícola. P. 1-25 1942
12. KIGGINS, E. M. et al. Cross agglutination between Vibrio fetus and Brucella abortus. Am. J. Vet. Res. 16:291-294 1955.
13. MANTHEI, C. A. and CARTER, R. W. Persistence of Brucella abortus infection in cattle. Am. J. Vet. Res. 39: 173-180 1950.
14. MANTHEI, C. A. Review of suggested method for differentiation of vaccine infection serum agglutinins titers for Brucellosis in cattle. Am. Proc. Meet. U. S. Livestock San. Ass. p. 135-143 1953.
15. MC MAHAM, Brucellosis of cattle. Agricultural Experiment Station. 237: 1-16 1946.
16. MORSE, E. V. et al. Cross agglutination reactions amongst Brucella, Vibrio and other microorganisms. Am. J. Vet. Res. 14:324-327 1953.
17. MORGAN, B. W. J. Brucellosis. J. Dairy Res. 37:303-360 1970.
18. MAYA, V. BLOOD, B. B. y ALVAREZ, V. D. Influencia de la vacunación anti aftosa sobre el título aglutinante para brucelosis en bovinos. Rev. -- Med. Vet. (B. A.) 45:2-10 1964.
19. MYLREA, P. J. The diagnosis of brucellosis in dairy herd. Aust. Vet. -- J. 48:369-375 1972.
20. NICOLETTI, P. and MURASHI, T. F. Bacteriologic evaluation of serologic test procedures for the diagnosis of brucellosis in problem herds. Am. J. Vet. Res. 27:689-694 1966.
21. RAMIREZ, M. A., WOOD, I. B. y GROSSE, J. A. El efecto inmunoestimulante del Tetramizol-Levamisol y su reacción con las vacunas. Veterinaria (I. V. U.), segunda época, 8:5-10 1976.
22. 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