

01/01/13 - Persistencia de anticuerpos en bovinos vacunados con *Brucella abortus* cepa 19.

Vet. Arg. ? Vol. XXIX - Nº 297 ? Enero 2013.

Cattáneo, M[1]; Bermúdez, J.1

Resumen.

La brucelosis es una enfermedad infecciosa causada por *Brucella abortus*. Esta bacteria Gram negativa afecta principalmente a los bovinos y en forma secundaria a otras especies animales incluyendo al hombre. En Uruguay se utiliza la prueba de rosa bengala como prueba tamiz oficial en la campaña sanitaria. El objetivo de este trabajo fue estudiar la persistencia de los anticuerpos vacunales utilizando la técnica de Rosa de Bengala en bovinos inoculados con *Brucella abortus* cepa 19. Se vacunaron 47 bovinos hembras, cruce, de entre 3 y 6 meses de edad, con 2 ml de una vacuna de *Brucella abortus* cepa 19 (contaje de 30 x 10⁹ UFC/mL). Luego de vacunados se extrajo sangre de los animales una vez por mes hasta que todos resultaron negativos a la prueba de Rosa de Bengala. Todos los animales resultaron negativos a la técnica de Rosa Bengala al octavo mes post vacunación con *Brucella abortus* cepa 19.

Palabras claves: bovinos, diagnóstico, rosa de bengala.

Persistence of vaccine antibodies using Bengala Rose test in cattle inoculated with *Brucella abortus* strain 19.

Summary.

Brucellosis is an infectious disease caused by *Brucella abortus*. This Gram negative bacteria primarily affects cattle, secondary other animal species including humans. In Uruguay Bengal Rose test is used as screening test in the official campaigning to control brucellosis. The aim of this work was to study the persistence of vaccine antibodies using Bengala Rose test in cattle inoculated with *Brucella abortus* strain 19. 47 female cross breed cattle, between 3 and 6 months of age, were vaccinated with 2 mL of a *Brucella abortus* strain 19 vaccine (count 30 x 10⁹ CFU/mL). Vaccinated animals were bled monthly until all resulted negative to Bengala Rose test. All animals resulted negative to Bengala Rose tests eighth month after immunization with *Brucella abortus* strain 19.

Key words: diagnostic, bovine, bengala rose.

[1] Área de Bacteriología. Departamento de Ciencias Microbiológicas. Facultad de Veterinaria. UdelaR. Uruguay. Lasplaces 1550. CP: 11.600.
 catta1973uy@yahoo.es

Introducción.

La brucelosis bovina es una enfermedad infecciosa causada por *Brucella abortus* (*B. abortus*) que afecta bovinos, en forma secundaria a otras especies animales y al hombre (Radostits y col., 2002; Casas, 2008). El diagnóstico se realiza por aislamiento y pruebas serológicas. Dentro de los métodos serológicos se encuentran la pruebas lenta en tubo de Wright (SAT), 2- Mercaptoetanol (2-ME), Rivanol (R), Huddleson (H), Rosa de Bengala (RB), Antígeno Tamponado en Placa (BPA), Fijación de Complemento (FC), ELISA indirecto (ELISA? I), ELISA competitivo (ELISA-C), Fluorescencia Polarizada (FPA) (Alton y col., 1976; García-Carrillo, 1982; Castro, 2005). En Uruguay se utiliza la prueba de RB como prueba tamiz oficial en la campaña sanitaria. Esta es una prueba muy sensible (detecta IgG1) y sencilla de realizar. El pH bajo del antígeno destruye las aglutininas IgM y las heteroespecíficas inhibiendo las reacciones inespecíficas (Davies, 1971; Alton y col., 1976; García-Carrillo, 1982; Casas, 2008). Esta técnica tiene una sensibilidad del 96.2 % y una especificidad de 97.1 % (Davies, 1971). El inconveniente del RB es que da positivo en animales vacunados *B. abortus* cepa 19, no distinguiendo entre infectado o vacunado (Alton, 1975, Nielsen, 1995). La persistencia de anticuerpos cuando se utiliza esta vacuna es mayor en las pruebas de aglutinación que en la FC y aún mayor cuando se vacunan animales adultos (Herr, 1985). Distintos trabajos indican que animales vacunados entre los 5-8 meses de edad las inmunoglobulinas IgG persisten hasta los 8 meses post vacunación (PV) y la detección de anticuerpos por más tiempo se deberían por infección natural (Herr, 1985). Samartino y col. en 1986 vacunaron terneras entre 5-8 meses de edad con *B. abortus* cepa 19 evaluando la respuesta de anticuerpos con la técnica de 2-ME, donde los animales fueron negativos a los 8 meses PV. Solís, 2008, vacunó 26 bovinos de entre 4-6 meses de edad con 6×10^{10} de *B. abortus* cepa 19, persistiendo los anticuerpos por la técnica de RB hasta casi los 7 meses PV. Estudios con las técnicas Huddleson y/o Wright mostraron que el 100 % de los animales vacunados entre los 4-6 meses de vida con 40 a 60 mil millones UFC de *B. abortus* cepa 19 fueron negativos a los 6 meses PV (Casas, 2008). Aguirre y col, en el 2002, evaluaron la respuesta humoral en terneras vacunadas con *B. abortus* cepa 19 por las técnicas de BPA, SAT, 2ME, FC, ELISA-I, ELISA-C y FPA, a los cuatro meses PV el 90 % de los animales fueron negativos a estas técnicas salvo FPA, ELISA-I y 2-ME, y a los 13 meses PV solo el 5.7 % resulto positivo a BPA y negativas a las demás pruebas.

Tabla 1. Resultados mensuales del test de Rosa Bengala en animales vacunados con *B. abortus* cepa 19.

Nº	Nº de caravana	Mes									
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	477	-	+	+	+	+	-	-	No	No	No
2	582	-	+	+	+	+	-	-	No	No	No
3	672	-	+	+	+	+	+	-	-	No	No
4	708	-	+	+	+	+	-	-	No	No	No
5	714	-	+	+	+	+	-	-	No	No	No
6	725	-	+	+	No	+	-	-	No	No	No
7	735	-	+	+	+	-	-	-	No	No	No
8	892	-	+	+	No	-	-	-	No	No	No
9	932	-	+	+	-	-	-	-	No	No	No
10	973	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
11	1011	-	+	+	+	+	+	+	-	-	No
12	1043	-	+	+	+	-	-	No	No	No	No
13	1099	-	+	+	+	+	-	-	No	No	No
14	1120	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
15	1177	-	+	+	-	-	-	-	No	No	No
16	1187	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
17	1376	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
18	1385	-	+	+	+	+	-	-	-	-	No
19	1461	-	+	+	+	-	-	-	No	No	No
20	1481	-	+	+	+	+	-	-	-	No	No
21	1757	-	+	+	+	No	-	-	No	No	No
22	1866	-	+	+	+	+	-	-	No	No	No
23	1920	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
24	1956	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
25	2011	-	+	+	-	-	-	-	-	-	No
26	2024	-	+	+	+	+	-	-	No	No	No
27	2030	-	+	+	+	+	+	+	-	-	No
28	2034	-	+	+	No	-	-	-	No	No	No
29	2055	-	+	+	+	-	-	-	No	No	No
30	2131	-	+	+	+	-	-	-	No	No	No
31	2213	-	+	+	-	-	-	-	No	No	No
32	2255	-	+	+	+	+	-	-	No	No	No
33	2263	-	+	+	+	+	-	-	-	No	No
34	2302	-	+	+	+	+	+	-	-	-	No
35	2406	-	+	+	+	+	-	-	No	No	No
36	2473	-	+	+	+	+	+	+	-	-	No
37	2535	-	+	+	+	-	-	-	No	No	No
38	2544	-	+	+	+	+	-	-	No	No	No
39	2607	-	+	+	+	-	-	-	No	No	No
40	2616	-	+	+	+	+	+	+	-	-	No
41	2679	-	+	+	+	+	-	-	No	No	No

Objetivo. El objetivo de este trabajo fue estudiar la persistencia de los anticuerpos vacunales utilizando la técnica Rosa de Bengala en bovinos inoculados con *B. abortus* cepa 19.

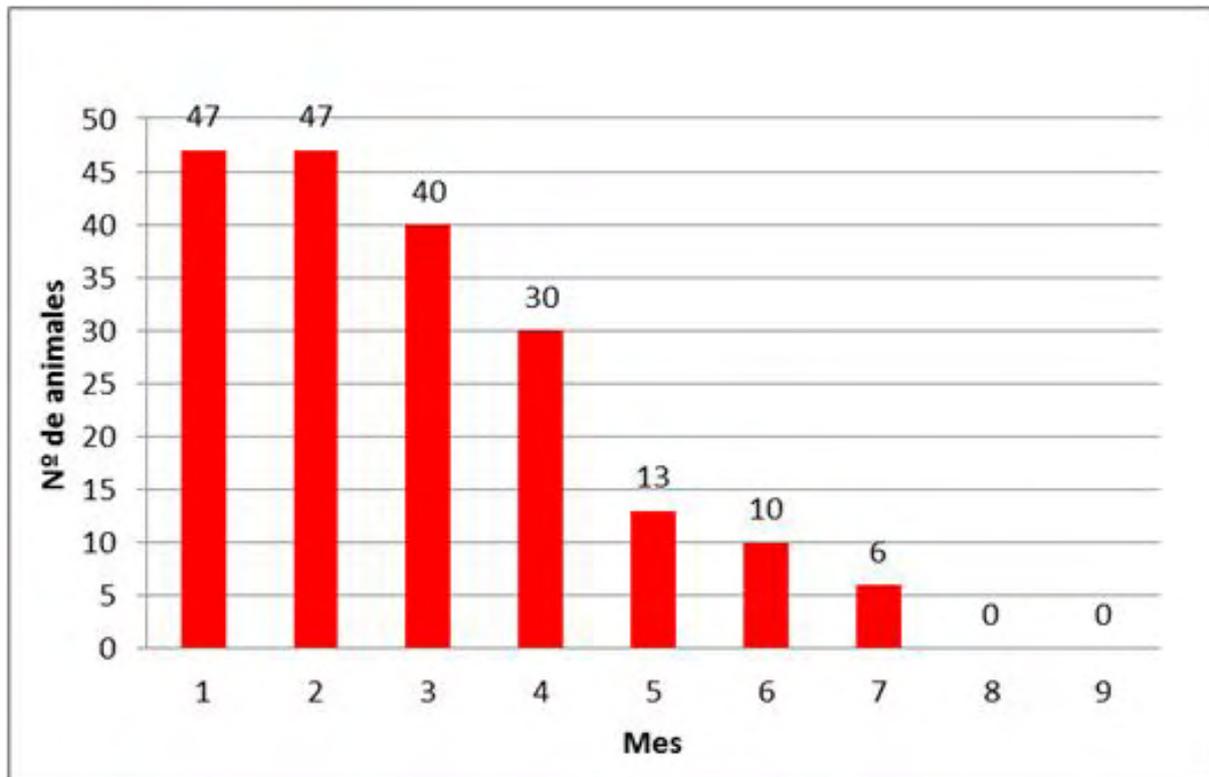


Gráfico 1. Resultados mensuales del test de Rosa Bengala en animales vacunados con *B. abortus* cepa 19. **Materiales y métodos.**

Se utilizaron 47 bovinos, cruza, hembras, de entre 3 y 6 meses de edad. Se utilizó una vacuna con un conteo final de 30×10^9 UFC/mL. Para el estudio de los anticuerpos se utilizó la técnica de RB según la OIE (OIE 2009). El antígeno de RB utilizado fue adquirido en Veterinary Laboratories Agency, Weybridge, United Kingdom, N° de lote 306. Como control positivo y negativo se utilizaron sueros adquiridos en el mismo laboratorio. A todos los animales se les realizó RB para confirmar su seronegatividad (Día 0) y luego se vacunaron con una sola dosis de la vacuna en forma subcutánea (2 mL). Luego de vacunados se extrajo sangre de los animales una vez por mes hasta que todos resultaran negativos a RB. Se aplicó el estudio estadístico SPSS (Box, 2005).

Resultados.

Al octavo sangrado ningunos de los animales presentó anticuerpos contra *B. abortus* cepa 19. Los resultados se muestran en la tabla 1 y gráfico 1. La correlación entre sangrado (tiempo) y la seronegatividad es significativa (Coef. Pearson >0.01).

Discusión y conclusión.

Los animales vacunados con cepa 19 mostraron persistencia de anticuerpos al RB hasta el octavo mes post vacunación. Hasta el segundo mes PV todos los animales fueron positivos a la prueba de RB. A partir del tercer mes comenzaron a observarse animales seronegativos. En el sexto mes PV solo el 20% de los animales vacunados permanecían positivos a la prueba de RB. Hay trabajos en donde se evalúa el comportamiento de diferentes técnicas serológicas en animales vacunados con *B. abortus* cepa 19, pero pocos en donde utilizan RB. Los resultados de este trabajo son similares a los obtenidos por Solis, 2008, en donde los animales se negativizan a los 7 meses PV con la técnica de RB. El presente trabajo y la bibliografía consultada (Solis, 2008) muestran que animales vacunados con *B. abortus* cepa 19, entre los 3-6 meses de vida, son negativos al RB como máximo al año y dos meses de edad. Este resultado nos indican que la persistencia de anticuerpos PV por la técnica de RB son similares a los presentados por otras técnicas cuando se utiliza la dosis completa de *B. abortus* cepa 19 y se vacunan entre 3 ? 8 meses de edad (Herr, 1985; Sanmartino, 1986; Aguirre, 2002; Casas, 2008).

Se evaluará a futuro el comportamiento del RB y de otras técnicas serológicas en animales vacunados con *B. abortus* cepa 19 utilizando diferentes dosis y vías de inoculación.

Bibliografía.

- AGUIRRE, NP; VANZINI, VR; TORIONI, S; VALENTIN, BS; De LUCCA, G; AUFRANC, C; CANAL, A; VIGLIOCCO, A; NIELSEN, K. Journal of Immunoassay & immunochemistry. Vol. 23, N° 4, pág.: 471-478. 2002. Antibody dynamics in Holstein Friesian Heifers vaccinated with Brucella Abortus strain 19, using seven serological test.
- ALTON, GG. Aus. Vet. J. 51:57-63. 1975. The serological diagnosis of bovine brucellosis: an evaluation of the complement fixation, serum agglutination and rose bengale test.
- ALTON, GG; JONES, LM.; PHETZ, DE. Segunda edición. FAO-OMS. 1976. Las Técnicas de Laboratorios en la Brucelosis.
- BOX, GEP; HUNTER, WG; HUNTER, JS. 2005. Estadística para investigadores. Ed. Reverté.
- CASAS OLASCOAGA, R. Veterinaria. Año LXVIII, vol. 43, N° 170. 2008. Brucelosis bovina.
- CASTRO, HA; GONZALEZ, SR; PRAT, MI. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana, 39 (2), p. 203-206. 2005. Brucelosis: una revisión práctica.
- DAVIES, G. The Veterinary Record. P. 447-449. 1971. The Rose Bengal Test.
- GARCIA CARRILLO, C. 1982. OMS-CPZ. Nota Técnica N° 25. Pruebas

suplementarias para el diagnóstico de la Brucelosis.

HERR, S; Te BRUGGE, LA. Journal of the South African Veterinary Association. Vol. 56, Nº 2, pág.: 93-96. 1985. Profiles serological reactions following adult cow inoculation with standard dose *Brucella abortus* strain 19 vaccine.

10. NIELSEN, KA. Arch. Med. Vet. Nº 27, pág.: 9-17. 1995. Brief Review of Diagnosis of Bovine Brucellosis by Detection of Antibody.

11. OIE (2009), Manual Terrestre, capítulo 2.4.3, página 12.

12. RADOSTITS, OM; GAY, CC; BLOOD, DC; HINCHCLIFF, KW. Vol. I, p. 1025-1042. 2002. Enfermedades causadas por bacterias-II.

13. SAMARTINO, LE; GONZALEZ, JS; de PALACIO, E. Rev. Med. Vet. (Bs.As). Vol.67-Nº6, pág.: 308-3012. 1986. Secuencia y comportamiento de las inmunoglobulinas séricas en terneras vacunadas contra Brucelosis.

14. SOLIS, TV. Tesis de grado: Ingeniero Agropecuario. Escuela Politécnica del Ejercito. Sangolqui, Ecuador. 2008. Cinética de anticuerpos de terneras inmunizados contra *Brucella*, mediante la vacuna cepa 19 (B-19).