

COMUNICACIONES PRELIMINARES

AISLAMIENTO DE *Brucella abortus* DESDE LECHE DE CUARTOS POSITIVOS A LA PRUEBA DEL ANILLO POR DILUCIONES SERIADAS

Lautaro Pinochet V. (MV), Pedro Abalos P. (MV), Iván Palavicino H. (MV, MS),
María L. Sánchez Ch. (MV, MSc), Ronald González J. (MV)

Brucella abortus ISOLATED FROM MILK RING TEST POSITIVE QUARTERS USING THE SERIAL DILUTION PROCEDURE

*Using the serial dilution Milk Ring Test procedure, 84 milk samples from individual quarters with titre ≥ 16 were selected. These samples had moreover a titre higher than the other quarters of the same cow. Eighty four milk samples without this condition were obtained. All samples were cultivated by bacteriological methods and *Brucella* organisms were isolated in 19 out of 84 serial dilution Milk Ring Test positive samples; negative samples were also negative to cultures. The sanitary significance for the presence of *Brucella* in milk is discussed.*

Los esquemas de control de brucelosis bovina se basan, en general, en la vacunación de terneras y en la eliminación de los animales reactivos a las pruebas diagnósticas utilizadas. En los países llamados en desarrollo, la eliminación de estos últimos está limitada por la incapacidad económica de pagar indemnizaciones o incentivos. Como norma se elimina, en forma gradual, a los bovinos que hayan abortado por brucelosis con el fin de evitar la entrega de microorganismos al medio. Hasta ahora no se ha considerado con este fin, a las vacas que eliminan *Brucella* por la leche.

La prueba del anillo de la leche (PA), ha sido usada para el diagnóstico de brucelosis, ya sea utilizando leches de varias vacas, como de vacas y cuartos en particular; también ha sido utilizada la prueba del anillo en diluciones seriadas (PADS), refiriéndose a leche de cuartos en particular (Roepke y Stiles, 1970). Jones y Berman (1980) y Pietz y Cowart (1980), han estudiado aquellos títulos de dilución de PADS que se considerarían indicadores de infección mamaria.

Es nuestro objetivo conocer si al utilizar PADS seleccionando los cuartos cuyas leches demuestran

diferencias de título con aquéllas de los otros cuartos del mismo animal, se puede detectar los que se encuentran infectados con *Brucella*.

MATERIAL Y METODOS

A partir de 471 vacas pertenecientes a tres predios lecheros de la Región Metropolitana, se seleccionaron bovinos cuyas leches eran positivas a PA individual. La prueba se realizó según Roepke y col. (1950), utilizando un antígeno preparado según normas de OPS/OMS (1982) y controlando de acuerdo a un antígeno patrón, serie 107 entregado por CEPANZO, OPS/OMS, Buenos Aires, Argentina.

Las muestras de estas vacas positivas se sometieron posteriormente a PADS por cuartos individuales, según Roepke y Stiles (1970), seleccionando aquellas que mostraban títulos iguales o superiores a 16 y además cuando estos títulos eran mayores que los presentados por otros cuartos de la misma vaca. Las diluciones se realizaron hasta 1:64, empleando para este fin leche negativa procedente de un plantel libre de brucelosis.

De los cuartos positivos en la prueba, se tomaron al azar 84 muestras, de acuerdo a un esquema que consideraba un $\alpha = 0,05$ y una potencia de 90%, a base de un porcentaje de cultivos a *B. abortus* esperado de 25%. Del mismo modo se seleccionaron 84 muestras de leche pertenecientes a cuartos negativos a PADS realizado en la forma ya citada. Se excluyó toda muestra de leche procedente de vacas

Departamento de Medicina Preventiva Animal.
Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias.
Universidad de Chile.
Casilla 2, Correo 15. Santiago, Chile.

Trabajo financiado por Proyecto 59/83. Fondo Nacional de Investigación Científica y Tecnológica. Chile.

que sufrían de mastitis clínica o que se encontraban al inicio o final de la lactancia.

Los cuartos positivos y negativos en la prueba fueron remuestreados, obteniendo las muestras en forma aséptica, en cantidad de 50 ml de leche, las que fueron sometidas en el laboratorio, a análisis bacteriológico para aislar *Brucella*. El aislamiento y tipificación se realizaron de acuerdo a las técnicas recomendadas por Alton y col. (1976). Los resultados obtenidos de cada grupo fueron analizados según la prueba de valores predictivos para positivos y negativos (Guerrero y col., 1981).

RESULTADOS

En el cuadro 1 se presenta la cantidad de bovinos que dieron resultados positivos a PA individual, en cada predio lechero. Cuatrocientos sesenta y dos (68,3%) cuartos, correspondientes a las 169 vacas positivas a PA individuales, fueron reactores a PADS con títulos ≥ 16 . De estas 462 muestras, 145 (31,4%) tenían, además, la cualidad de poseer un título a PADS superior al que presentaban a esta prueba los cuartos restantes de la misma vaca (cuadro 2). Las 84 muestras positivas, tomadas de este último grupo de 145 cuartos, provenían de 43 vacas. Al someterlas al análisis bacteriológico ofrecieron los resultados que se presentan en el cuadro 3, donde se los relaciona con los resultados de las 84 muestras negativas a la prueba.

Según estos resultados, un 22,6% de las muestras positivas a PADS, bajo las condiciones de este estudio, permitió el aislamiento de *B. abortus*. Las 19 muestras positivas a los cultivos provenían de 17 de los 43 bovinos, de los cuales se obtuvo dichas muestras.

Se determinó que el valor predictivo positivo para la prueba en estudio fue 0,2261 y el valor predictivo negativo 1,0.

DISCUSION

La prueba del anillo por diluciones seriadas es una prueba de fácil ejecución y lectura; puede realizarse sin mayores exigencias de material o equipo y es de un costo relativamente bajo. Está comprobado que esta prueba puede presentar errores, especialmente cuando la leche proviene de cuartos con mastitis, o bien de vacas que se encuentran al comienzo o al final de la lactancia (Nicoletti y Muraschi, 1966). Estos inconvenientes fueron superados en este estudio, con la excepción de no considerar las posibles mastitis subclínicas que pudieran haberse presentado.

Las vacunaciones con Cepa 19, especialmente cuando son aplicadas a bovinos adultos, pueden también alterar los resultados por la persistencia de

CUADRO 1
BOVINOS POR PREDIO, REACTORES
A LA PRUEBA DEL ANILLO
DE LA LECHE INDIVIDUAL

Predio	Número de vacas	* PA* individual	
		positivos	%
A	138	57	41,3
B	142	53	37,3
C	191	59	30,8
Total	471	169	35,8

*PA = Prueba del anillo.

CUADRO 2
CUARTOS CON TITULOS ≥ 16 , EN PADS
Y CUARTOS CUYO TITULO DE LA PRUEBA
FUE ADEMAS SUPERIOR AL DE OTROS
CUARTOS DE LA MISMA VACA.
(Se indica la cantidad de vacas
a las que corresponden).

Predio	PADS* ≥ 16		PADS* ≥ 16 y superior a otros cuartos de la misma vaca	
	Cuartos	(vacas)	Cuartos	(vacas)
1	209	(57)	66	(27)
2	121	(53)	29	(18)
3	132	(59)	50	(21)
	462	(169)	145	(66)

*PADS = Prueba del anillo en diluciones seriadas.

CUADRO 3
AISLAMIENTO DE *B. abortus* DESDE
MUESTRAS NEGATIVAS Y POSITIVAS
A PADS 1:16 Y MAYOR AL DE OTROS
CUARTOS DE LA MISMA VACA

PADS*	Cantidad de muestras	Aislamiento de <i>B. abortus</i>	
		Positivo	Negativo
Positivo	84	19	65
Negativo	84	0	84

*Título ≥ 16 y mayor al de otros cuartos de la misma vaca en la prueba del anillo en diluciones seriadas.

anticuerpos postvacunales. Los predios de donde se obtuvieron las muestras en esta experiencia, solamente practicaban la vacunación a la edad de 3-8 meses.

Las variaciones de los títulos que se presentaron entre los cuartos del mismo animal, estarían expresadas por la acción local de anticuerpos aglutinantes, provocada por la infección que comprometería a un determinado cuarto mamario y no a otros. Estas variaciones fueron, la mayoría de las veces superiores a dos títulos de dilución. Se acepta que la vaca cuya infección no está comprometiendo la ubre, producirá leche positiva en PADS con un título similar en los cuatro cuartos de la vaca afectada y un título equivalente al suero sanguíneo (Roepke y Stiles, 1970), de ahí que el alza del título aglutinante de la leche de un determinado cuarto podría indicar compromiso de infección y este mayor título ser interpretado como consecuencia de la sumatoria de anticuerpos en donde participarían aquéllos producidos *in situ*.

En el presente estudio, cerca de un tercio de los cuartos positivos a PADS con título ≥ 16 , tenía la característica que su título era mayor al de otros cuartos de la misma vaca.

El porcentaje de aislamiento de *B. abortus* (22,6%), debe considerarse menor que el real. Es conocido que muchas veces una ubre infectada puede aparecer como libre del agente, debido a la intermitencia en la eliminación de *Brucella*, a la escasa cantidad de ésta en la muestra o bien a que las técnicas de aislamiento sean poco sensibles.

El análisis bacteriológico de las muestras no es recomendable en la práctica rutinaria de control de brucelosis en una lechería, por lo especializado y oneroso. En consecuencia, se estima que PADS en la forma utilizada en este estudio, puede recomendarse cuando se pretenda eliminar parcialmente los animales reactivos a las pruebas tradicionales de brucelosis, con miras a reducir la carga de animales infectados de una lechería, entendiéndose obviamente, que el ideal sería eliminar del plantel a todo animal reactor.

La elevada proporción (17/43) de vacas que eliminaban *Brucella* por la leche tiene un especial significado, tanto desde el punto de vista de salud pública, como en relación con la diseminación intrapredial de la infección. Estos factores ya han sido considerados por Nicoletti (1980).

Una vaca infectada, elimina ordinariamente *Brucella* cuando aborta, e incluso en un parto normal, eliminación que perdura por algunos días. En el caso de la eliminación de este agente por la leche, como consecuencia de alguna lesión brucelósica mamaria, persistirá por períodos más prolongados y posiblemente en lactancias sucesivas, lo que experimentalmente ha sido demostrado por Brinley-Morgan (1960).

El goteo de leche en los potreros o en los diferentes recintos de una lechería, el reflujo de leche en la máquina de ordeño, la infección de terneras por la

administración de estas leches, etc., podrían ser factores importantes de diseminación de la infección intrapredial.

La contaminación de las manos del ordeñador, así como el consumo por el hombre de esta leche infectada, no hervida o no pasteurizada, constituye también un factor importante de riesgo en la transmisión de la infección.

RESUMEN

Se seleccionaron 84 muestras de leche bovina procedentes de cuartos individuales, que dieron resultados positivos a la prueba del anillo mediante el procedimiento de diluciones seriadas, mostrando un título ≥ 16 y además superior a aquél de otros cuartos de la misma vaca. Simultáneamente se tomaron otras 84 muestras de leche que no cumplían estas condiciones. Las muestras fueron sometidas a cultivos bacteriológicos para aislar *Brucella*, lo que se logró en 19 de aquellas leches positivas a la prueba citada y en ninguna de las muestras negativas. Las 19 muestras de leche positivas a los cultivos procedían de 17 de las 43 vacas positivas a la prueba del anillo usado por el procedimiento citado. Se discute además el significado sanitario de la presencia de vacas que eliminan *Brucella* por la leche.

REFERENCIAS

- ALTON, G.G.; L.M. JONES, D.E. PIETZ. Las técnicas de laboratorio en brucelosis. 2ª ed. Ginebra, Organización Mundial de la Salud, 1976. 175 p. (Serie Monog. N° 55).
- BRINLEY-MORGAN, W.J. The excretion of *Brucella abortus* in the milk of experimental infected cattle. Res. Vet. Sci. 1: 53-56, 1960.
- GUERRERO, R.; L. GONZÁLEZ, E. MEDINA. Epidemiología. Bogotá, Fondo Educativo Interamericano, 1981. 218 p.
- JONES, L.M.; D.T. BERMAN. Bovine brucellosis. Geneve, World Health Organization. 1980. 5 p. (BRUC/80. 365. WHO/ZOON/80. 139).
- NICOLETTI, P. The epidemiology of bovine brucellosis. Adv. Vet. Sci. Comp. Med. 24: 69-96, 1980.
- NICOLETTI, P.; B. MURASCHI. Bacteriology evaluation of serologic test procedure for the diagnosis of brucellosis in problem cattle herds. Am. J. Vet. Res. 27: 689-694, 1966.
- ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD-ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. Brucellosis. Pruebas suplementarias para el diagnóstico de la brucelosis. Bs. As. Centro Panamericano de Zoonosis, 1982. 28 p. (Nota Técnica N° 25).
- PIETZ, D.E.; W. COWART. Use of epidemiologic data and serologic test in bovine brucellosis. J. Am. Vet. Med. Assoc. 177: 1221-1226, 1980.
- ROEPKE, M.H.; K.G. PATTERSON, F.C. DRIVER, L.B. CLAUSEN, L. OLSON, J.E. WENTWORTH. The *Brucella abortus* ring test. Am. J. Vet. Res. 11: 199-205, 1950.
- ROEPKE, M.H.; F.C. STILES. Potential efficiency of milk ring test for detection of brucellosis. Am. J. Vet. Res. 31: 2145-2149, 1970.

Recibido en mayo de 1988, aprobado en septiembre de 1988.