

# PERSISTÊNCIA DE ANTICORPOS AGLUTINANTES E FIXADORES DE COMPLEMENTO EM BEZERRAS VACINADAS COM *BRUCELLA ABORTUS* AMOSTRA B19.<sup>1</sup>

LUIS A. MATHIAS<sup>2</sup>  
ARAMIS A. PINTO<sup>3</sup>  
ERNANI I. GONÇALVES<sup>2</sup>

## RESUMO

Vacinaram-se 17 bezerras, com idade entre três e 18 meses, com uma dose padrão de vacina B<sub>19</sub> contra brucelose, a fim de se verificar a persistência de anticorpos aglutinantes e de anticorpos fixadores de complemento. Colheu-se o sangue desses animais no dia da vacinação e, posteriormente, em intervalos até os 364 dias. Submeteu-se essas amostras às provas de soroprecipitação rápida (SAR), antígeno acidificado tamponado (PAAT) e à reação de fixação do complemento (RFC<sup>3</sup>). Seis dias após a vacinação todas as 17 bezerras já apresentavam título entre 1:25 e 1:400 à SAR, e a mais alta média desses títulos ocorreu aos 14 dias de vacinação. Após 364 dias apenas uma bezerra, vacinada aos 11 meses de idade, apresentava título (1:50) à prova da SAR. Aos 14 dias de vacinação todas as bezerras apresentavam título à RFC<sup>3</sup> e a mais alta média foi verificada aos 17 dias. Aos 160 dias apenas uma das bezerras mantinha título fixador de complemento, fato este que persistiu até o final do estudo, sendo essa a mesma bezerra que manteve por mais tempo o título à SAR. A PAAT, realizada após seis dias de vacinação, demonstrou resultado positivo para 14 das 17 bezerras. Aos 14 dias de vacinação todas as bezerras apresentavam resultado positivo à PAAT. Para três provas sorológicas realizadas houve uma rápida diminuição nos níveis de anticorpos, tendo havido uma bezerra na qual esses níveis persistiram por mais tempo.

*Palavras-chave:* Brucelose, *Brucella abortus* amostra B<sub>19</sub>, bovinos.

## 1. INTRODUÇÃO

Um dos mais sérios problemas encontrados no diagnóstico sorológico da brucelose bovina em nosso meio consiste na ocorrência de reação determinada pela vacinação com *Brucella abortus* B19. Dessa forma, é fundamental que se conheça por quanto tempo persistem os anticorpos pós-vacinais, detectados pelos métodos sorológicos utilizados rotineiramente no diagnóstico dessa enfermidade.

Na literatura internacional encontra-se várias publicações sobre o assunto, sendo a maioria delas relativas às provas de aglutinação. Assim, KING & FRANK<sup>7</sup> verificaram que bovinos vacinados com amostra B19 aos três meses de idade tornaram-se negativos à prova de soroprecipitação após dois a três meses. REDMANN et alii<sup>8</sup> observaram que os títulos aglutinantes em bezerras vacinadas entre dois e três meses de idade tornaram-se negativos antes que os títulos de bezerras vacinadas entre quatro e oito meses. GONZÁLEZ et alii<sup>6</sup> comprovaram que os títulos aglutinantes pós-vacinação começam a decrescer significativamente aos dez meses de vacinação. Tal fato foi observado especialmente nas bezerras vacinadas entre três e quatro meses de idade.

Quanto à reação de fixação do complemento, ALTON<sup>3</sup>

afirma que quase todos os animais vacinados com *B. abortus* B19 tornaram-se negativos um ano após a vacinação.

Já na literatura brasileira encontra-se apenas dados relativos à persistência de aglutininas. RODRIGUES & GIOGI<sup>9</sup> observaram que animais vacinados com idade de dois a quatro meses tornaram-se negativos às provas de soroprecipitação lenta e rápida, de 60 a 90 dias após a vacinação. AMARAL et alii<sup>4</sup> verificaram que após 120 dias de vacinação os animais tornaram-se negativos ao "card test".

Em virtude da falta de dados em nosso meio, objetivou-se, através do presente trabalho, verificar a persistência de anticorpos fixadores de complemento e de anticorpos aglutinantes em bezerras vacinadas com *Brucella abortus* amostra B19.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1. Animais

Estudou-se 17 bezerras cruzadas, com idade variando de três a 18 meses, sendo sete entre três e cinco meses, três entre seis e nove e sete com idade entre dez e dezoito meses. Antes da vacinação nenhuma das bezerras apresentava anticorpos contra *Brucella abortus*.

Vacinou-se estes animais com uma dose padrão de va-

<sup>1</sup>. Realizado com auxílio do CNPq, bolsa de aperfeiçoamento Processo n. 102222/81.

<sup>2</sup>. Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública — Universidade Estadual Paulista — UNESP — 14870 — Jaboticabal — São Paulo.

<sup>3</sup>. Departamento de Microbiologia — UNESP — 14870 — Jaboticabal — São Paulo

cina B<sub>19</sub>, adquirida no comércio, por via subcutânea. Colheu-se sangue no dia da vacinação e aos 6, 9, 14, 17, 20, 23, 30, 37, 55, 98, 127, 160, 215, 259, 336 e 364 dias pós-vacinação.

## 2.2. Antígenos

Utilizou-se, em todas as técnicas, antígenos padrões, produzidos e comercializados pelo Ministério da Agricultura do Brasil. Para a reação de fixação do complemento empregou-se o antígeno utilizado na prova de soro-aglutinação lenta, na sua dose de reatividade ótima.

## 2.3. Provas sorológicas

Para a verificação de anticorpos aglutinantes empregou-se a prova de soro-aglutinação rápida (SAR), realizada de acordo com a técnica padrão descrita por ALTON et alii<sup>1</sup> e a prova do antígeno acidificado tamponado (PAAT) realizada conforme os critérios de ALTON et alii<sup>2</sup>.

Na determinação de anticorpos fixadores de complemento utilizou-se a técnica 50% de hemólise, com os componentes da reação padronizados segundo a técnica de BIER et alii<sup>5</sup>.

## 3. RESULTADOS

Seis dias após a vacinação com *Brucella abortus* amostra B<sub>19</sub>, as bezerras estudadas já apresentavam título aglutinante, determinado através da prova de soro-aglutinação rápida. Esses títulos variavam de 1:25 a 1:400. A mais alta média dos títulos, obtida por essa prova, foi verificada aos 14 dias pós-vacinação, conforme pode-se observar no Gráfico 1. Aos 55 dias uma das bezerras já não apresentou tí-

tulo e aos 127 dias esse fato foi verificado em seis das 17 bezerras estudadas. Após 215 dias de vacinação apenas duas bezerras ainda apresentavam título aglutinante. Uma delas apresentava título 1:25 e a outra título 1:50, sendo que essa última manteve esse título até o 364o. dia, quando foi feita a última observação. Essa bezerra foi vacinada aos 11 meses de idade.

Ao 160 dias de vacinação todas as bezerras vacinadas entre três e nove meses de idade não mais apresentavam título à soro-aglutinação rápida e das sete bezerras com idade superior a 10 meses quando da vacinação, três apresentavam título a essa prova.

Quando da primeira colheita de sangue, aos seis dias de vacinação, 14 das 17 bezerras apresentavam título à reação de fixação do complemento. Aos 14 dias todas já apresentavam título a essa prova e a mais alta média de títulos foi obtida após 17 dias de vacinação (Gráfico 1). Aos 98 dias três bezerras já não apresentavam título e aos 160 dias apenas uma das bezerras ainda mantinha algum título fixador de complemento, fato este que persistiu até o final do estudo. Essa bezerra era a mesma que manteve por mais tempo o título aglutinante na prova de soro-aglutinação rápida.

As bezerras vacinadas entre três e cinco meses de idade apresentavam queda mais rápida dos títulos, ao passo que nas bezerras vacinadas após dez meses de idade os títulos fixadores de complemento persistiram por mais tempo.

A prova do antígeno acidificado tamponado, realizada após seis dias de vacinação, demonstrou resultado positivo para 14 das 17 bezerras. Aos 14 dias todos os animais apresentavam resultado positivo, fato esse que persistiu até o 20o. dia, conforme expressa o Gráfico 2. Já aos 23 dias uma das bezerras, vacinada entre três e cinco meses

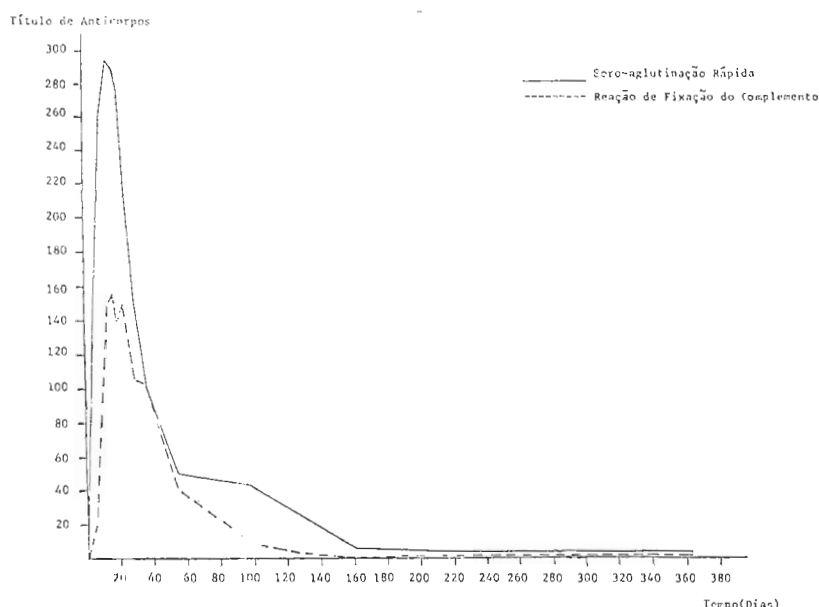


Gráfico 1 - Média dos títulos de anticorpos apresentados à soro-aglutinação rápida e à reação de fixação do complemento, por bezerras vacinadas com *Brucella abortus* amostra B<sub>19</sub>, em relação ao tempo após a vacinação.

Números de animais positivos

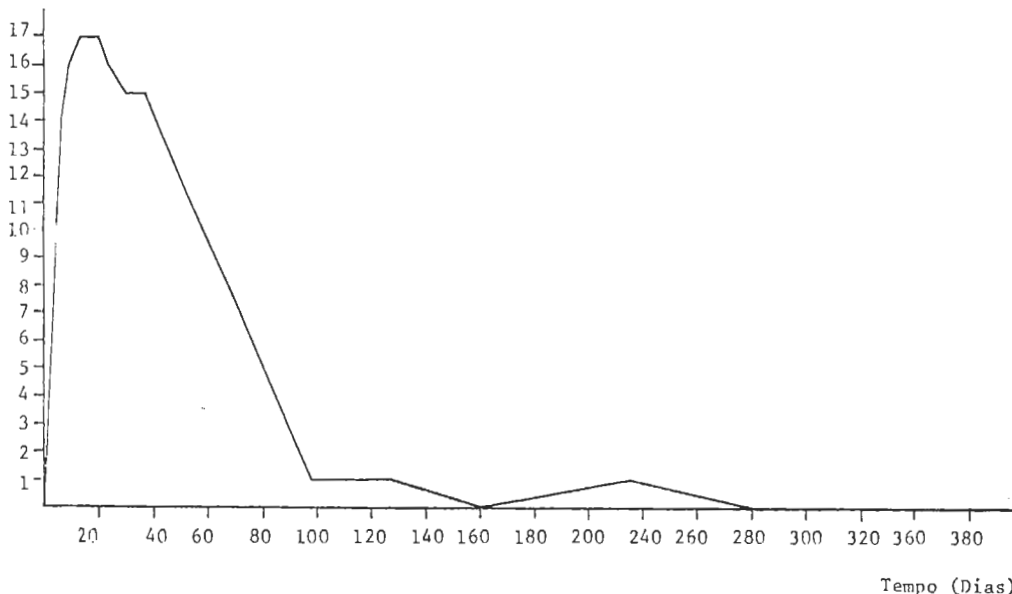


Gráfico 2 - Número de bezerras positivas à prova do antígeno acidificado tamponado, em relação ao tempo decorrido da vacinação com *Brucella abortus* amostra B<sub>19</sub>.

de idade, apresentou resultado negativo à PAAT. Após 98 dias de vacinação apenas um animal continuava positivo, sendo essa a mesma bezerra que manteve por mais tempo os títulos aglutinante e fixador de complemento. Essa bezerra apresentou resultado negativo à PAAT na prova realizada aos 160 dias de vacinação, porém aos 215 dias voltou a apresentar resultado positivo, tornando-se definitivamente negativa após 259 dias da vacinação. Essa oscilação no resultado ocorreu também nas outras duas provas sorológicas, com a mesma bezerra e aos 160 dias de vacinação.

O resultado da PAAT também demonstrou que as bezerras vacinadas entre três e cinco meses de idade tornaram-se negativas antes que as demais.

O resultado da PAAT também demonstrou que as bezerras vacinadas entre três e cinco meses de idade tornaram-se negativas antes que as demais.

#### 4. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Os resultados desse trabalho não diferem muito daqueles obtidos por outros autores. KING & FRANK<sup>7</sup> verificaram que bezerras vacinadas aos três meses de idade apresentavam resultado negativo, isto é, título menor que 1:100 à prova de soro-aglutinação lenta, dois a três meses após a vacinação. RODRIGUES & GIORGI<sup>9</sup> também obtiveram resultados negativos à prova de soro-aglutinação lenta, no espaço de 60 a 90 dias após a vacinação de bezerras com idade entre dois e quatro meses. Entretanto, no presente trabalho verificou-se uma queda mais rápida nos níveis de anticorpos aglutinantes. Após 160 dias as bezerras vacinadas entre três e nove meses de idade já não apresentavam título à prova de soro-aglutinação rápida, ao passo que no trabalho de KING & FRANK<sup>7</sup>, apesar de o resultado ser considerado negativo, as bezerras mantiveram títulos

residuais por vários meses. GONZÁLEZ et alii<sup>6</sup> verificaram que os títulos aglutinantes começam a diminuir significativamente aos dez meses de vacinação.

O auge do nível de anticorpos, verificado no 14o. dia (Gráfico 1), está de acordo com os achados de KING & FRANK<sup>7</sup> e de RODRIGUES & GIORGI<sup>9</sup>.

O fato de as bezerras vacinadas mais jovens terem mantido os títulos aglutinantes por menos tempo de que as vacinadas mais tardiamente confirma várias observações anteriores (KING & FRANK<sup>7</sup> REDMAN et alii<sup>8</sup>, SIQUEIRA et alii<sup>10</sup>, GONZÁLEZ et alii<sup>6</sup>).

Na amostra de soro sanguíneo colhida aos 160 dias de vacinação constatou-se, em uma das bezerras, uma diminuição no nível de anticorpos, que depois voltou a subir revelada pelas três provas sorológicas efetuadas. GONZÁLEZ et alii<sup>6</sup> também verificaram em seu estudo, oscilações nos títulos aglutinantes e acreditam que essas flutuações poderiam ser atribuídas a fatores estressantes decorrentes das práticas de manejo.

A curva dos níveis de anticorpos fixadores de complemento, verificados ao longo do estudo, não deferiu muito daquela obtida para os anticorpos aglutinantes, conforme demonstra o Gráfico 1. Os títulos mais altos foram obtidos no 17o. dia e também ocorrem oscilações nos títulos. Aos 160 dias de vacinação apenas uma bezerra ainda mantinha algum título fixador de complemento, o que persistiu até o final do estudo, corroborando a afirmação de ALTON<sup>3</sup> segundo a qual quase todas as bezerras vacinadas com a amostra B<sub>19</sub> tornaram-se negativas à reação de fixação do complemento após um ano de vacinação.

Todas as bezerras estudadas apresentavam resultado positivo à prova do antígeno acidificado tamponado 14 dias após a vacinação. Esses dados não diferem daqueles obtidos por AMARAL et alii<sup>4</sup> que obtiveram resultados positivos ao "card test" aos 18 dias após a vacinação, uma vez

que esses autores realizaram a primeira colheita de sangue apenas aos 18 dias. Esses autores constataram que as bezerras vacinadas tornavam-se negativas ao "card test" após 120 dias, enquanto que no presente trabalho 16 das 17 bezerras estudadas apresentaram resultado negativo à prova do antígeno acidificado tamponado aos 98 dias de vacinação e uma bezerra, vacinada aos 11 meses de idade, somente tomou-se definitivamente negativa aos 259 dias.

Os resultados deste trabalho demonstraram que, para as três provas sorológicas realizadas, houve uma rápida diminuição nos níveis de anticorpos nas bezerras vacinadas com *Brucella abortus* amostra B19, tendo havido uma bezerra na qual esses anticorpos persistiram por mais tempo. Tal

fato pode encontrar explicação na afirmação de ALTON<sup>3</sup>, de que ao redor de uma em cada 200 bezerras vacinadas mantêm reações sorológicas por longos períodos.

O rápido declínio dos títulos de anticorpos aglutinantes, verificado neste trabalho, induz a concordar com as observações de GONZÁLEZ et alii<sup>6</sup>, os quais acreditam que os critérios recomendados pela FAO (ALTON et alii<sup>1</sup>) para a interpretação das provas de soro-aglutinação para o diagnóstico da brucelose, poderiam ser considerados demasiadamente brandos, uma vez que dos bovinos vacinados entre três e oito meses de idade, são considerados como positivos apenas aqueles com mais de 30 meses de idade e que apresentem título maior ou igual a 1:200.

#### ABSTRACT

*The results of an experiment to investigate the persistence of agglutinating and fixing complement antibodies in seventeen female calves, 3 to 18 months old, vaccinated with Brucella abortus strain 19 under field conditions, are reported. The animals were sampled for serum in the day of vaccination and thereafter up to 364 days. The sera were examined by the plate agglutination (PAT), complement fixation (CFT) and Rose Bengal plate tests (RBPT). Six days after vaccination all the 17 animals showed agglutination titre between 1 in 25 and 1 in 400 in the PAT and the higher average occurred at the 14<sup>th</sup> day after vaccination. Three hundred and sixty four days after vaccination a single animal, vaccinated at 11 months old, showed titre 1 in 50 in the PAT. Fourteen days after vaccination all animals revealed titres in the CFT and the highest average occurred at the 17<sup>th</sup> day. One hundred and sixty days after vaccination a single animal showed fixing complement titre that persisted until the end of the experiment, this same animal maintained for more time the agglutination titre in the PAT. Six days after vaccination 14 out of 17 animals showed positive results to the RBPT. Fourteen days after vaccination all animals were positives to the RBPT but the antibody was no longer detectable after 259 days. For the three serological tests there was a rapid decrease in the antibody levels but one animal maintained the titre for more time.*

*Key words: Brucellosis, Brucella abortus strain 19, cattle.*

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALTON, G.G.; JONES, L.M. & PIETZ, D.E. *Las técnicas de laboratorio en la brucelosis*. 2 ed. Ginebra, 1976. 175 p.
2. ALTON, G.G.; MAW, J.; ROGERSON, B.A. & Mc PHERSON, G.G. The serological diagnosis of bovine brucellosis: an evaluation of the complement fixation, serum agglutination and Rose Bengal tests. *Aust. Vet. J.*, 51: 57-63, 1975.
3. ALTON, G.G. The control of bovine brucellosis. Recent developments. *World An. Rev.*, 39: 17-24, 1981.
4. AMARAL, L.B.S.; RODRIGUES, F.M.; SANDOVAL, L.A. & FEITOSA, M.H. Resultados comparativos entre a soro-aglutinação e o "card test" em bovinos imunizados com vacinas aglutinogênicas e não aglutinogênicas contra a brucelose. *O Biológico.*, 44: 17-19, 1979.
5. BIER, O.; SIQUEIRA, M.; ESTEVES, M.B. Quantitative studies of complement fixation. I. A simplified and accurate procedure based on 50 per cent hemolytic end point. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo.*, 10: 199-208, 1968.
6. GONZÁLEZ, S.; CONTRERAS, P.; ZAMORA, J. Persistencia de seroaglutininas en terneras vacunadas a diferentes edades com cepa 19. *Arch. Med. Vet.*, 10: 44-47, 1978.
7. KING, N.B. & FRANK, N.A. Effect of age on resistance and retention of titer in cattle vaccinated with strain 19 *Brucella abortus* vaccine. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 139: 100-103, 1961.
8. REDMAN, D.R.; DEYOE, B.L.; KING, N.V. Resistance of cattle to *Brucella abortus* following vaccination at two and three month of age. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 150: 403-407, 1967.
9. RODRIGUES, F.M. & GIORGI, W. Observação dos títulos aglutinantes em soros de bovinos de diferentes idades vacinados com amostra B19. *O Biológico.*, 39: 36-39, 1973.
10. SIQUEIRA, P.A.; FONTANELLO, D.; RIBEIRO, W.R.