



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

V7

**“Estudio Comparativo entre las Técnicas
Rápida en Placa y Lenta en Tubo, para el
Diagnóstico de la Brucelosis Caprina”**

TESIS PROFESIONAL

MARIO VILLALOBOS SALAZAR

PRIMERA GENERACION 64-69

GUADALAJARA, JAL., SEPTIEMBRE DE 1971

A MIS QUERIDOS PADRES:
INOSCENCIO VILLALOBOS CLAUDIO Y
JUANITA SALAZAR DE VILLALOBOS.

CON TODO CARIÑO A MI ESPOSA:
CELIA MARQUEZ DE VILLALOBOS.

AFECTUOSAMENTE A MIS
HERMANOS.

CON AGRADECIMIENTO Y RESPETO AL DR.
RAMON FERNANDEZ DE CEVALLOS.

CON AGRADECIMIENTO AL DR.
JAVIER RIVERA HERNANDEZ.

A MIS MAESTROS Y
COMPAÑEROS.

AGRADEZCO AL PERSONAL DEL LABORATORIO DE PATOLOGIA ANIMAL "GUILLERMO ARANDA GUEDEA" DE LEON, GTO., SU VALIOSA COOPERACION PARA EL -
DESARROLLO DE ESTE TRABAJO.

C O N T E N I D O

INTRODUCCION
MATERIAL Y METODOS
RESULTADOS
DISCUSIONES
CONCLUSIONES
BIBLIOGRAFIA

INTRODUCCION

El Municipio de Lagos de Moreno, Jal., tiene gran importancia en la producción lechera del Estado. Esto debido a que cuenta con varias plantas industrializadoras de leche, motivo por el cual, la mayor parte de la Población se dedica a la explotación del ganado bovino y caprino, siendo predominante el primero.

Una gran parte de este Municipio, está integrado por terrenos accidentados y pobres en pastos, los cuales no son aprovechables por los bovinos. En estas partes, comunmente habitadas por campesinos de escasos recursos económicos, se encuentran gran número de cabras, única fuente de ingresos para estas personas.

Actualmente, el Municipio cuenta con - diez mil cabezas de ganado caprino. (1)

La mayor parte de este ganado es criollo, en el cual no se practica ningún tipo de selección ni control Zootecnico-Higiénico.

Las personas dedicadas a la explotación de esta especie, sufren anualmente grandes pérdidas económicas. Las causas principales de estas pérdidas son: abortos, bajas en la producción láctea, muerte de cabritos y animales adultos.

Durante mi Servicio Social en el citado Municipio, tuve oportunidad de observar numerosos abortos y retención placentaria, en varios lotes de cabras, siendo una de las causas, la - Brucelosis.

Lo anterior llamó mi atención, ya que la leche producida por dichas cabras era destinada en gran parte, a la elaboración de quesos, ca-

jetas y dulces. Y en algunos casos se expende - como leche fresca para el consumo humano. Esto representa una gran fuente de infección para las personas que consumen dichos productos.

Siendo los caprinos una de las especies susceptibles a Brucelosis, me interesó el estudio de esta Zoonosis en dicha especie.

M A T E R I A L B I O L O G I C O

- 1) Antígeno Brucella Abortus coloreado
 para prueba rápida en placa cepa 1119-3

- 2) Antígeno Brucella Abortus sin colorear
 para prueba lenta en tubo cepa 1119-3

- 3) 500 sueros de cabra cuyas historias -
 clínicas no reportan inmunización con-
 tra alguna de las especies de Brucella.

MATERIAL DE LABORATORIO

- 1) Tubos de 10cc. para recolección de sangre.
- 2) Agujas Hipodérmicas.
- 3) Tintura de yodo.
- 4) Pipetas de Bang .
- 5) Tubos de vidrio Pyrex de 13 X 100 mm.
- 6) Gradilla para tubos.
- 7) Estufa de baño maría.
- 8) Caja para aglutinación.
- 9) Palillos de madera.
- 10) Lápiz grasoso.
- 11) Gotero.
- 12) Jeringa de 10 cc.

M E T O D O S

Prueba rápida en placa (HUDDLESON)

Consiste en mezclar cantidades decrecientes de suero sanguíneo: 8 centésimas, 4 centésimas, 2 centésimas, 1 centésima y .5 centésimas de ml., con una gota de antígeno en la placa de vidrio de la caja de aglutinación, valiéndose de la pipeta de bang y del gotero.

Se revuelve muy bien con un palillo, - empezando de la dilución mayor con el objeto de no alterar las concentraciones. Según lo indica la técnica. (2)

La lectura se efectúa a los 8 minutos.
(2-3).

Las diluciones corresponden a los títulos de $1/25$, $1/50$, $1/100$, $1/200$ y $1/400$ de la - prueba lenta en tubo.

M E T O D O

a) Por cada muestra deberán utilizarse 5 tubos que corresponden a las diluciones de $1/25$, $1/50$, $1/100$, $1/200$ y $1/400$.

b) El primer tubo se identifica con el número correspondiente a la muestra del suero.

c) Antes de iniciar la prueba, se retira el suero y el antígeno del refrigerador y se expone a temperatura ambiente durante 30-60 m.

d) Con una pipeta de Bang se obtendrá el suero problema y en el fondo del primer tubo se deposita la cantidad de 8 centésimas, 4 centésimas en el segundo, 2 centésimas en el tercero, 1 centésima en el cuarto y .5 centésimas en el quinto.

e) Con una jeringa se depositan 2.0 ml. de antígeno diluido dentro de cada tubo que contiene el suero problema, resultando así las diluciones de $1/25$ a $1/400$.

f) Los tubos son agitados durante 30 - segundos para lograr la homogenización de las - mezclas.

g) Se incuban los tubos a 37.5°C durante 48 horas y se efectua la lectura de la - reacción. (6)

Prueba lenta en tubo (WRIGHT)

Dilución del antígeno para la prueba del tubo.

El antígeno para la prueba del tubo ha sido estandarizado para poseer concentración celular equivalente al 4.5%. (4)

Para realizar la prueba de tubo es necesario diluir la suspensión de antígeno original a una concentración equivalente al 0.045 %.

La dilución del antígeno deberá realizarse cuando menos 12 horas antes de utilizarse y se conserva en refrigeración.

El antígeno estandarizado deberá diluirse con una solución salina fenolada al 5%. (5)

La dilución del antígeno se realiza - mezclando las siguientes proporciones:

Antígeno para la prueba en tubo estandarizado 30 ml.

Solución salina fenolada 2970 ml. (6)

TABLA No. 1

TABLA No. 2

RESULTADO DE LA PRUEBA DE AGLUTINACION EN TUBO
DE 500 SUEROS SANGUINEOS DE CABRA

<u>Título</u>	<u>No. de Muestras</u>	<u>% del Total</u>
0	464	92.80
1/25	7	1.40
1/50	3	0.60
1/100	8	1.60
1/200	16	3.20
1/400	2	0.40
<u>TOTAL</u>	<u>500</u>	<u>100.00</u>

Sueros Negativos	471
Sueros Sospechosos	3
Sueros Positivos	26

TABLA No. 3

RESULTADOS DE LA PRUEBA DE AGLUTINACION EN PLACA
DE 500 SUEROS SANGUINEOS DE CABRA

<u>Título</u>	<u>No. de muestras</u>	<u>% del Total</u>
0	463	92.60
1/25	2	0.40
1/50	5	1.00
1/100	6	1.20
1/200	14	2.80
1/400	10	2.00
<u>TOTAL</u>	<u>500</u>	<u>100.00</u>

Sueros Negativos 465
Sueros sospechosos 5
Sueros positivos 30

TABLA No. 4

RESULTADO DE LAS DOS PRUEBAS EN 500 SUEROS
SANGUINEOS DE CABRA

<u>Aglutinación en Placa</u>			<u>Aglutinación en tubo</u>		
<u>Título</u>	<u>No. de Muestras</u>	<u>% del Total</u>	<u>Título</u>	<u>No. de Muestras</u>	<u>% del Total</u>
0	463	92.60	0	464	92.80
1/25	2	0.40	1/25	7	1.40
1/50	5	1.00	1/50	3	0.60
1/100	6	1.20	1/100	8	1.60
1/200	14	2.80	1/200	16	3.20
1/400	10	2.00	1/400	2	0.40
<u>TOTAL</u>	<u>500</u>	<u>100.00</u>	<u>TOTAL</u>	<u>500</u>	<u>100.00</u>

Sueros Negativos	465	Sueros Negativos	471
Sueros Sospechosos	5	Sueros Sospechosos	3
Sueros Positivos	30	Sueros Positivos	26

TABLA No. 5

PORCENTAJES DEL TOTAL DE LOS SUEROS TRABAJADOS

AGLUTINACION EN PLACA

Negativos	465	93.00 %
Sospechosos	5	1.00 %
Positivos	30	6.00 %
T O T A L	500	100.00 %

AGLUTINACION EN TUBO

Negativos	471	94.20 %
Sospechosos	3	0.60 %
Positivos	26	5.20 %
T O T A L	500	100.00 %

DISCUSIONES

En la tabla II y III se puede apreciar que existe una gran aproximación en el número de muestras reaccionantes a las dos pruebas, lo cual nos demuestra que los resultados obtenidos no son mera coincidencia.

Las diluciones 1/25 y 1/400 muestran - una diferencia muy marcada en cuanto al número de muestras reaccionantes, mientras que las diluciones 1/50, 1/100 y 1/200 tienen una gran aproximación en el número de sueros reaccionantes en ambas pruebas. Como lo muestra la tabla IV.

Haciendo una comparación en el número de sueros sospechosos y positivos en las dos pruebas, vemos que la prueba de aglutinación en placas da 5 sospechosas y 30 positivas y la prueba del tubo solamente nos da 3 sospechosas y 26 positivas. Tabla V.

Las discrepancias encontradas en la presente encuesta, pueden ser debidas: a la elevada sensibilidad del antígeno de placa ó a una mayor especificidad de la aglutinación en tubo. (7) Cabe agregar los errores de interpretación.

Para la interpretación de los resultados nos basamos en las normas que establecen L. A. MERCHAN y R. A. PACKER (8) y el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Brucelosis. (9) Tomándose como sospechosas las aglutinaciones 1/50 y positivas las de 1/100 ó más. Aunque en algunos textos, como el MANUAL MERCK DE VETERINARIA (10), se establece que si cualquiera de los animales del rebaño muestra un título de aglutinación de 1/100, todas las cabras que reaccionen al 1/50 ó 1/25 se considerarán también infectadas.

La tabla No. 1 muestra el total de sueros reaccionantes y nos indica que la muestra No. 23 no tuvo reacción a ninguna de las

diluciones de la prueba del tubo, pero sí a la prueba de placa a la dilución de 1/25. También nos muestra que las muestras 2 y 10 no tuvieron reacción en la prueba de placa, pero sí en la prueba del tubo. La No. 2 hasta 1/200 y la No. 10 hasta 1/25.

Las diferencias encontradas en los diferentes títulos de ambas pruebas, se pueden explicar en la siguiente forma:

La presencia de Haptenos (antígenos parciales) que pueden ser de naturaleza hidrocarbónica, lipoides ó substancias nitrogenadas, las cuales tienen capacidad de reaccionar con anticuerpos, pero no pueden por sí solos estimular la formación de estos. (2-8-11)

Los sueros de animales con infecciones activas por brucelas, contienen por lo general - aglutininas, pero los títulos pueden ser muy bajos, muy altos, con una prozona ó negativos.(11)

Algunas de las pruebas negativas lo son por la presencia en el suero de un anticuerpo bloqueador, termolabil que reacciona como un antígeno no aglutinante univalente. (11)

Las especies de *Brucella* tienen un antígeno común con *V. comma*, *V. Fetus* y *Pasterella tularensis*. Esto debe tenerse en cuenta en las pruebas serológicas de diagnóstico. En general el título para los organismos homólogos, es más alto - que para los heterólogos.. (2)

C O N C L U S I O N E S

Los sueros negativos para la prueba de placa, lo son también para la prueba de tubo.

A títulos de aglutinación 1/50, 1/100 y 1/200, las dos pruebas tienden a ser iguales.

El método de placa tiene bastante concordancia con el método del tubo, para diagnóstico de Brucelosis Caprina.

S U M A R I O.

Estudio comparativo entre las técnicas rápida en placa y lenta en tubo para el diagnóstico de la Brucelosis Caprina.

Se realizó en el Municipio de Lagos de Moreno, Jal., en animales adultos, sin inmunización a ninguna de las especies de Brucella y en condiciones de higiene y manejo deficientes.

Se utilizaron 500 sueros, los cuales se obtuvieron por sangrado de un igual número de cabras. La recolección fué de la vena yugular, con aguja hipodérmica, previa desinfección. Se daba el tiempo necesario para que coagulara y se separara el suero.

En seguida se les practicaba la prueba de placa, valiéndose de la caja de aglutinación, pipeta de Bang y gotero.

Posteriormente se practicaba la prueba del tubo, para lo cual utilizamos tubos, gradillas, pipetas y estufa de baño María.

El método de placa tiene bastante concordancia con el método del tubo para diagnóstico de Brucelosis Caprina.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1) Comunicación verbal por el Presidente de la Asociación Ganadera Local.
- 2) W. A. HAGAN D. W. BRUNER Enfermedades Infecciosas de los Animales Domésticos. Prensa Médica Mexicana - (1957) Pág. 32- 216- 258.
- 3) Centro Panamericano de Zoonosis. Técnicas de Sero-Aglutinación Brucelosis. Nota Técnica No. 2 Pág. 6.
- 4) Centro Panamericano de Zoonosis. Antígeno para pruebas de aglutinación Brucelosis. Nota Técnica No. 3 Pág. 8.
- 5) G. RENOUX R. GAUMONT.-Métodos de Diagnostico Biológico de las Brucelosis - animales. Centro National de la Recherche Scientifique de Francia. Pág. 86.

- 6) Dirección General de Sanidad Animal. Campaña Nacional para el Control de la Brucelosis. Pruebas Serológicas de Rutina para el Control de la Brucelosis. Boletín Técnico No. 1 (1969).

- 7) Eneas W. Rendón Ruíz. Estudio Comparativo de Diversas Técnicas Serológicas para el Diagnóstico de la Brucelosis Ovina. Escuela Nacional de Medicina Veterinaria y Zootecnia (1963), Pág.35

- 8) I. A. Mercham y R. A. Packer. Bacteriología y Virología Veterinarias. Págs: 207- 208- 474.

- 9) Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en - Brucelosis. Cuarto Informe. Pág. 44-45.

- 10) Merck Sharp & Dohme International. El Manual Merck de Veterinaria. 1/a. Edición (1970) Pág. 263.

11) Dr. J. Luis Castellanos Barba. Curso
de Crédito Inmunoquímica. Pág. 1-54.