

INVESTIGACION DE ANTICUERPOS INCOMPLETOS O BLOQUEANTES EN EL DIAGNOSTICO DE LA BRUCELOSIS CAPRINA.

(INVESTIGATION OF INCOMPLETE OR BLOCKING ANTIBODIES IN THE DIAGNOSIS OF CAPRINE BRUCELLOSIS).

por

A. Uceda Gaitán, A. Anguiano Benito, E. Serrano de Burgos, F. Cuello Gijón y A. Garrido Contreras.

Departamento de microbiología e inmunología. Facultad de veterinaria. Universidad de Córdoba (España).

Palabras clave: Veterinaria. Inmunología. Seroaglutinación. Coombs. Cabra.

Keywords: Veterinary. Medicine. Immunology. Seroagglutination. Goat. Coombs test.

Summary

The authors have studied a hundred caprine serum samples from flocks with brucellosis.

By the agglutination test, 73 per cent of serum samples were negative; the Coombs test carried out with these show 69,86 per cent positive reactions, which indicate higher sensitivity of this method than the serum agglutination test for the caprine brucellosis diagnostic.

Resumen

Se estudian cien sueros caprinos procedentes de rebaños brucelóticos. Sometidos a la prueba de seroaglutinación lenta, resulta negativos el 73,00 p.100. Realizada la prueba de Coombs, con éstos últimos, se consigue un 69,86 p.100 de resultados positivos, lo que demuestra la mayor sensibilidad de este método en la detección de anticuerpos antibrucela.

Recibido para publicación el 20-11-1982.

RODERO ET AL.: INVESTIGACION ANTICUERPOS EN DIAGNOSTICO BRUCELOSIS CAPRINA

Dada la importancia que tiene la brucelosis como zoonosis y las elevadas pérdidas que ocasiona en nuestra economía, hemos realizado este estudio, concretándonos a la especie caprina. Son muchos los métodos serológicos que se utilizan en el diagnóstico de esta enfermedad. La aplicación de la prueba de Coombs para detectar los anticuerpos incompletos específicos en la brucelosis, reveló ser un método de gran interés, como auxiliar de la aglutinación clásica, ya que su mayor sensibilidad permite descubrir reacciones falsamente negativas.

Aunque los anticuerpos bloqueantes fueron descritos primeramente en el suero anti Rh, fueron Renoux (8) y Wilson y Merrifield (11) los primeros que los estudian en la brucelosis, y ponen a punto la técnica para su detección con vistas al diagnóstico de la enfermedad. Más tarde, Hall y Manion (6), en un estudio sobre 200 pacientes con brucelosis, comparan la dódima de Coombs con otros métodos serodiagnósticos y comprueban que los anticuerpos bloqueantes oscurecen el resultado de la aglutinación lenta en tubo.

Para Renoux (9), es la prueba de Coombs la más sensible, en el diagnóstico de la brucelosis caprina y ovina, seguida de la floculación y de la fijación del complemento. Se consideran títulos positivos, para la aglutinación, un mínimo de 1/80; de 1/10 o superior, para la dódima de Coombs; de 1/20 o más, para la prueba de floculación, de Hunter, y 1/4 o más alto, para la reacción de fijación del complemento.

#### Material y métodos

Se han investigado 100 sueros caprinos, de distintas razas, procedentes de Montilla (Córdoba). Han sido sometidos a la prueba de seroaglutinación lenta (SAL), siguiendo la pauta de NEISSER, utilizando como diluyente solución salina al 5 p.100 y, como antígeno, una suspensión comercial de B. melitensis.

Los sueros negativos a la citada prueba, fueron sometidos a la dódima de Coombs, según Renoux y Gammont (10), utilizando un suero antiglobulina preparado por nosotros (10), precipitando las globulinas séricas con acetona fría y CO<sub>2</sub>, con posterior inoculación a conejos, en dosis progresivas y crecientes, y titulando mediante el método de Proom (7).

#### Resultados y discusión

Los resultados totales de las técnicas serológicas empleadas se expresan en las tablas I y II. Las tablas III y IV reflejan el estudio

porcentual de las mismas.

De los cien sueros caprinos sometidos a seroaglutinación (SAL), 73 muestras fueron totalmente negativas y los restantes alcanzaron estos títulos: 7, de 1/20; 7, de 1/40; 3, de 1/80; 4, de 1/160; 2, de 1/320 y 4, de 1/640.

De los 73 sueros negativos, al ser analizados mediante la prueba de Coombs, resultaron negativos sólo 22; el resto, positivos, con estos títulos: 27, de 1/20; 15, de 1/40 y 9, de 1/80.

Porcentualmente, de las 73 muestras negativas por la SAL, el 69,86 p.100 fue positivo mediante la prueba de Coombs. De ellas, el 36,99 p.100 corresponde al título 1/20; 20,54 p.100, al título 1/40; 12,33 p.100, al título 1/80; y solamente un 30,14 p.100 ha vuelto a ser negativo. Gourdon y col. (5), Brahic y col. (1), Garrido (4), Chang Chuin-Chiuo (2) y otros investigadores, con similares métodos llegan a resultados semejantes.

No ha de extrañarnos las altas cifras de positividad obtenidas mediante las antiblogulinas de Coombs, en relación con la seroaglutinación, ya que es fácilmente explicable que en un rebaño infectado, como han demostrado los altos títulos obtenidos con la seroaglutinación, los animales no reaccionantes estén también no exentos de enfermedad, pero la presencia en ellos de un nivel importante de anticuerpos incompletos anula la positividad de la citada prueba.

En consecuencia, aunque la seroaglutinación es de gran valor en la lucha contra la brucelosis caprina, creemos que el método de Coombs, aunque más lento y laborioso, ofrece superior garantía para diagnosticar la enfermedad. Fuentes y col. (4) llegan a similares resultados.

#### Bibliografía

1. Brahic, J., J. Tamalet, P. Madet y A. Girault. Resultats comparés du serodiagnostic de Wright et du test de Coombs dans la brucellose experimentale du cobaye. C. R. Soc. Biol. 149, 373-376 (1955).
2. Chiang Shuin-Chiuo. Experimental studies on the use of incomplete antibodies for the diagnose of brucellosis. Preparation of antiglobulin serum and study of the method. Act. Microbiol. Sinica. 11, 433-439 (1965).

RODERO ET AL.: INVESTIGACION ANTICUERPOS EN DIAGNOSTICO BRUCELOSIS CAPRINA

3. Fuentes, J. y García Alcázar, I. Pruebas diagnósticas de la brucelosis humana. R.P. IV, 4, 35-40 (1980).
4. Garrido, A. La prueba de Coombs en el diagnóstico de la brucelosis caprina. II Semana nacional veterinaria. Córdoba (1964).
5. Gourdon, R., M.M.Cl. Quichon, B. Grillo y G. Labonnefon. Intéret du test de Coombs dans le diagnostic de la brucellose bovine. Ann. Inst. Pasteur. 92, 429 (1957).
6. Hall, W.H. y R.E. Manion. Comparison of the Coombs test with other methods for brucella agglutinins in human serum. J. Clin. Invest. 32, 96-106 (1953).
7. Proom, H. J. Path. Bact. 55, 419 (1943).
8. Renoux, G. Anticorps bloquants dans le sérum de sujets brucelliques. II. Leur rôle dans le phénomène d'agglutination paradoxale. Ann. Inst. Pasteur. 79, 232-234 (1950).
9. Renoux, G. Diagnosis of brucellosis in sheep and goats. World Health Organization. FAO/WHO Expert Committee on Brucellosis. WHO/Bruc/144 (1957).
10. Renoux, G. y R. Gaumont. Métodos de diagnóstico biológico de las brucelosis animales. Patología de la producción láctea. II parte, pp. 92-94 (1968).
11. Wilson, M.M. y E.V.D. Marrifeld. The antiglobulins (Coombs) test in brucellosis. Lancet 2, 913-914 (1951).

Tabla I. Seroaglutinación.

Muestra Título		Muestra Título		Muestra Título	
1	-	18	1/640	35	1/80
2	-	19	-	36	-
3	-	20	-	37	1/40
4	-	21	-	38	-
5	-	22	-	39	1/80
6	-	23	-	40	-
7	-	24	-	41	-
8	-	25	1/20	42	-
9	-	26	-	43	-
10	-	27	-	44	1/40
11	1/20	28	-	45	-
12	1/40	29	-	46	-
13	-	30	-	47	-
14	1/20	31	-	48	1/640
15	1/20	32	1/20	49	-
16	-	33	1/160	50	-
17	-	34	-		

Tabla I. (Continuación).

Muestra	Título	Muestra	Título	Muestra	Título
51	-	68	-	85	-
52	-	69	-	86	-
53	-	70	1/230	87	1/160
54	-	71	-	88	1/40
55	-	72	1/640	89	-
56	1/40	73	-	90	-
57	1/80	74	1/40	91	1/20
58	-	75	-	92	-
59	-	76	-	93	1/160
60	-	77	-	94	1/20
61	-	78	-	95	-
62	1/40	79	-	96	-
63	1/40	80	-	97	-
64	-	81	-	98	-
65	-	82	-	99	-
66	-	83	-	100	-
67	1/640	84	-		

Tabla II. Prueba de coombs.

Muestra	Título	Muestra	Título	Muestra	Título
1	1/40	18		35	
2	-	19	-	36	1/80
3	1/20	20	1/40	37	
4	1/80	21	1/40	38	1/20
5	1/20	22	1/80	39	
6	1/40	23	1/80	40	-
7	1/80	24	1/20	41	-
8	-	25		42	-
9	1/20	26	-	43	1/20
10	-	27	-	44	
11		28	1/20	45	1/80
12		29	-	46	1/20
13	1/40	30	1/40	47	-
14		31	1/20	48	
15		32	1/20	49	-
16	1/20	33		50	1/80
17	-	34	1/20		

Tabla II. (Continuación).

Muestra	Título	Muestra	Título	Muestra	Título
51	1/20	68	1/20	85	
52	-	69	1/20	86	1/40
53	-	70		87	
54	-	71	1/20	88	
55	-	72		89	1/40
56		73	-	90	1/20
57		74		91	
58	1/80	75	-	92	1/80
59	--	76	1/20	93	
60	1/20	77	1/20	94	
61	1/40	78	1/40	95	1/80
62		79	1/80	96	-
63	1/20	80		97	1/20
64	1/20	81	1/40	98	1/20
65	1/40	82	1/40	99	-
66	1/20	83	1/20	100	1/40
67		84	1/20		

Tabla III. Muestras positivas a la sal, según título.

Título	Nº de muestras	Por 100
-	73	73
1/20	7	7
1/40	7	7
1/80	3	3
1/160	4	4
1/320	2	2
1/640	4	4

Tabla IV. Sueros positivos a la prueba de coombs, según título.

Título	Nº de muestras	Por 100
-	22	30,14
1/20	27	36,99
1/40	15	20,54
1/80	9	12,33