Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTEONIA



EVALUACION DE LA PRUEBA DE FIJACION DE COMPLEMENTO EN TUBO Y EN MICROPLACA PARA EL DIAGNOSTICO DE LA PIROPLASMOSIS EQUINA.

FIBLIOTECA = UNAM

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A:

ARTURO DURAN DIAZ Asesores: MVZ. Carlos Guzmán Clark MVZ. América Brissa Castillo Monroy





UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Ed Morphilogo Villand de Sa Hollingard Romander of the Sauth of the Sauthard Richelberg of the Sauthard and 12 Africa Barros

Compound à quarrent sessioner Argungament de la presentation de la pre

A CONTRACT OF SAME AND A CONTRACT OF A CONTR

A MIS ASESCRES:

M.V.Z. CARLOS GUZMAN CLARK

M.V.Z. AMERICA BRISSA CASTILLO MONROY.

AL HONORABLE JURADO:

M.V.Z. RENE C. FRAPPE MUCIÑO

M.V.Z. JOSE T. TORRES MONTOYA

M.V.Z. ANTONIO MORLETT TORRES

M.V.Z. FRANCISCO ALONSO PESADO

M.V.Z. RAUL VAZOUEZ MARTINEZ

A ROSA MARIA

EDER

Y

ANIA

CON AMOR.

A MIS PADRES Y HERMANOS QUE ME DIERON ALIENTOS PARA SEGUIR SIEMPRE ADELANTE

A MIS AMIGOS QUE COLABORARON PARA LA REALIZACION DE ESTE TRABAJO.

	CONTENIDO	Pags.
I)	RESUMEN	
II)	INTRODUCCION	1
III)	OBJETIVOS	3
IV)	MATERIAL Y METODOS	4
v)	RESULTADOS	15
VI)	DISCUSION Y CONCLUSIONES	22
VII)	BIBLIOGRAFIA.	24

RESUMEN

Se examinaron serológicamente por medio de las pruebas de fijación de Complemento F'c en tubo y microplaca 300 sueros de equi no clínicamente sanos provenientes del Valle de México para eva luar la sensibilidad de cada una de ellas para detectar anticuer pos contra Piroplasma equi. Las pruebas de laboratorio se efectuaron en el Centro Nacional de Referencia en Salud Animal, loca lizado en Santa Ana Tecámac, Edo. de México, se emplearon las pruebas utilizadas por el National Veterinary Services Laboratories Ames Iowa U.S.A.; de los 300 sueros examinados 28 mostraron ser reactores positivos a ambas pruebas. La prueba de Fijación en microplaca es tan sensible como la prueba de F'c en tubo para la detección de anticuerpos específicos contra Piroplasmosis.

INTRODUCCION

La babesiosis o piroplasmosis es una enfermedad parasitaria que afecta a bovinos, equinos, suinos, ovinos, canideos y al hombre. Los organismos causales son parásitos pequeños no pigmentados de eritrocitos de los mamíferos, a los que afecta y que es clasifica da de la siguiente forma:

Clase - Sporozoa

Orden - Haemosporida

Familia - Babesiidae

Género - Babesia

Especie- equi o caballi (en equinos)

(1, 3, 4, 5, 8, 11, 15, 22).

Esta enfermedad ocurre en regiones tropicales y subtropicales del mundo, su distribución depende del terreno y de la presencia del vector apropiado, como son las garrapatas: Dermacentor nitens, - Dermacentor silvarum, Rhipicephalus bursa, Rhipicephalus sanguin eus. Que actúan como verdaderos vectores biológicos de la enferme dad.

(4, 5, 13, 15, 16, 19, 21).

La Piroplasmosis equina es causada por dos especies de Babesias - B. equi y B. caballi, infecciones solas o mezcladas pueden ocurrir. La infección natural ocurre mediante la picadura de garrapatas infestadas, también puede ser introducida por medio de agujas contaminadas con sangre que contengan piroplasmas. Aunque muy rara, también es posible la transmisión por vía placentaria. (1, 6, 7, 9, 11, 14).

Una vez curada la enfermedad deja inmunidad contra la especie de babesia que la produjo, la inmunidad resulta de la infec-ción lábil, por lo cual los animales curados son portadores de parásitos y pueden difundirlos rediante garrapatas, la duración de la inmunidad es variable según la severidad del caso. (6, 9, 10, 12, 13).

El diagnóstico de la Piroplasmosis, sobre todo en los primeros días de la enfermedad puede ser difícil, ya que es normal la vitalidad de los enfermos, para el diagnóstico es importante la comprobación de la presencia del agente etiológico en los glóbulos rojos, si bien teniendo en cuenta que los parásitos solo abundan en la sangre durante 2 a 5 días del proceso febril, más tarde siguiendo el curso de la enfermedad disminuye de tal modo su número que no se encuentran o se ven difícilmente.

En vista de que es defícil observar los parásitos en tinción de sangre de animales enfermos, se han desarrollado pruebas de laboratorio para detectar anticuerpos contra piroplasma como son:

a)	Fijación de Complemento	(F'C)
ъ)	Aglutinación Capilar	(A.C)
c)	Aglutinación en placa	(C.T.)
d)	Hemoaglutinación pasiva	(H.P)
e)	Inmunofluoresencia Indirecta	(I.F.I)
f)	Precipitación en Agar	(P.A.)

(5, 7, 17, 19, 21, 23, 24, 25).

Las ventajas que presenta la prueba de Fijación de Complemento, son las siguientes:

- a) No requiere de equipo especial de laboratorio.
- b) Es altamente específica para detectar la infección.
- c) La dilución de sueros presenta una evidencia del grado de infección.
- d) Con esta prueba se puede determinar la duración del estado portador.
- e) Esta prueba es la más utilizada en exámenes de reconocimiento epizooticos.

(2, 6, 9, 14, 17, 24).

El objetivo del presente trabajo es demostrar que la prueba de Fijación de Complemento en microplaca es tan sensible como la prueba de Fijación de Complemento en tubo para la detección de anticuerpos contra <u>Babesia equi</u> a través de la comparación de resultados de estas dos pruebas y ver la conveniencia de adaptar la prueba de Fijación de Complemento en tubo a microplaca.

MATERIAL Y METODOS

Se analizaron 300 sueros de equino clínicamente sanos por medio de las pruebas de Fijación de Complemento en tubo y microplaca. Según las técnicas del National Veterinary Services Laboratories Ames Iowa, U.S.A. (N.V.S.L.).

Se realizó primero la prueba de tamiz o pantalla para ambas pruebas (cuadro 3 y cuadro 4), utilizando solamente la dilución 1:5 para cada suero, con su control conteniendo suero diluído y complemento diluído para detectar sueros anticomplementarios.

El complemento (suero de cuye) conservado a -70°C se tituló para obtener 2 unidades que se diluyó al 4% para la prueba en tubo - (cuadro 1) y 5.5 unidades que se preparó diluyéndolo al 40% para la prueba en microplaca (gráfica 1 y cuadro 2), refrigerándose a 4°C durante 20 minutos antes de usarlo en la prueba.

Los glóbulos rojos de ovino colectados en solución de alsever 3-días antes de realizar la prueba. Fueron lavados con solución - stock en un tubo cónico graduado por centrifugación 3 veces a 1000 R.p.m. durante 5 minutos y luego resuspendidos en solución stock a una concentración de 3% para la prueba en tubo y 2% para prueba en microplaca. Esta suspensión fue mezclada con un volúmen igual de hemolisina previamente titulada (cuadro 5) 1:3200 con dos unidades para ambas pruebas e incubada a 37°C durante 15 minutos en baño maría para el efecto de sensibilización y posteriormente refrigerarla a 4°C hasta su uso en la prueba.

El antígeno <u>Piroplasma equi</u> que procede del (N.V.S.L.) Ames Iowa, U.S.A. Se diluyó 1:256 para ambas pruebas.

CUADRO	DE	TITULA	ACION	DEL	COM	PLEME	OTV					
		PR UEBA	A EN	TUBO					CUAD	RO 1.		
	-	TROLL	1 2.1	1000	2U				1 U			
Porcentaje de complemento	6.0	5.5	5.0	4.5	4.0	3.5	3.0	2.5	2.0	1.5	1.0	<u>•5</u>
Complemento 5%	.6	•55	• 5	• 45	•4	•35	• 3	.25	.2	•15	.1	•05
Solución Stock	•4	•45	• 5	•55	.6	.65	•7	•75	.8	.85	•9	•95
Solución Stock	•5	• 5	•5	•5	• 5	• 5	• 5	• 5	• 5	• 5	• 5	•5
Sistema hemolítico	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0

Poner la gradilla con los tubos en baño maría 37°C, 20 minutos. El porcentaje de complemento más bajo donde haya hemolisis completa es considerada una unidad.

(24,25).

^{*} Una unidad de complemento.

^{** 2} unidades de complemento necesarias para la prueba.

CUADRO DE TITULACION DE COMPLEMENTO PARA LA PRUEBA EN MICROPLACA

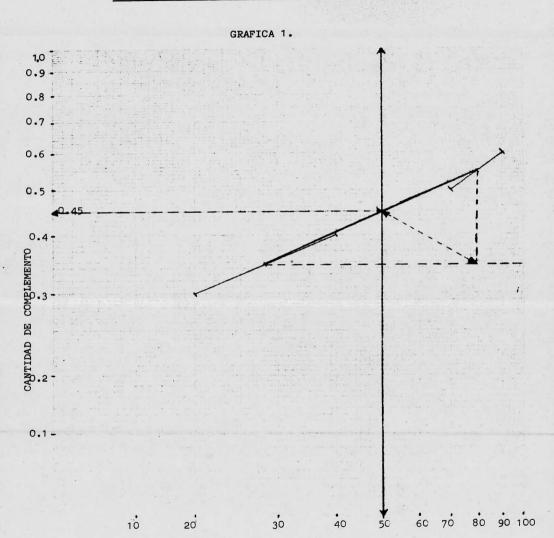
CUADRO 2.

TUBOS	1	2	_3_	4
Solución Stock	0.3	0.2	0.1	0.0
Complemento diluído (1:500)	0.3	0.4	0.5	0.6
Sistema hemolítico	0.4	0.4	0.4	0.4

- a) Incubar las gradillas con tubos 15' a 37°C baño maría.
- b) Agitarlos.
- c) Incubar la gradilla otros 15' a 37°C baño maría.
- d) Centrifugar los tubos 900 R.P.M. 10 minutos.
- e) Comparar cada tubo con estandares de hemólisis
- f) Graficar para obtener la dilución óptima de complemento. (24,25).

GRAFICA DE LA TITULACION DEL COMPLEMENTO: MICROPLACA

1765



PORCENTAJE DE HEMOLISIS

FORMULA PARA OBTENER LA DILUCION DE COMPLEMENTO NECESARIA PARA LA PRUEBA DE MICROPLACA.

DILUCION DE COMPLEMENTO USADA EN LA TITULACION

VOLUMEN CONTENIENDO 5.5 C'H 50

$$= \frac{x}{0.2}$$
 ml. \rightarrow cantidad requerida para la prueba

* X = Dilución de complemento necesaria para obtener 5.5 c'H₅₀

$$\frac{500}{2.47} = \frac{X}{0.2}$$

0.45

2.475

$$2.47 X = 500 (0.2)$$

 $2.47 X = 100$

$$X = \frac{100}{2.47}$$

X = 40.48

Dilución 1:40

PRUEBA DE TAMIZ O PANTALLA PRUEBA EN TUBO CUADRO 3

MUESTRA DE SUERO	SUERO PROBLEMA	CONTROL +	CONTROL A'C*
Dil 1:5	0.25 ml.	0.25 ml.	0.25 ml.

Antigeno Babesia equi

0.25 ml. 2 unidades 0.25 ml. 0.25 ml. -----

Complemento 0.25 ml.

2 unidades 0.25 ml. 0.25 ml. 0.25 ml.

Incubar 1 hora a 37°C baño maría

Sistema hemolítico 0.5 ml. 0.5 ml. 0.5 ml.

Incubar 30 minutos a 37°C baño maría.

(24).

^{*} A'c - Anticomplementario.

CUADRO 4. PRUEBA DE TAMIZ O PANTALLA PRUEBA EN MICROPLACA

MUESTRA DE SUERO	SUERO PROBLEMA	CONTROL+	CONTROL A'C *
Dil. 1:5 stock	.025 ml.	.025 ml.	.025 ml.
Antigeno Babesia equi			
.025 ml. dos unidades	.025 ml.	.025 ml.	
Complemento .025ml.	.025 ml.	.025 ml.	.025 ml.
5.5 unidades			
Incubar 1 hora a 37°C	en baño maría		

.05 ml. .05 ml.

Incubar 20 minutos a 37°C en baño maría

Sistema hemolítico .05 ml.

Agitar

Incubar 25 minutos a 37°C en baño maría

Refrigerar la placa a 4°C 2 a 3 horas.

^{*} A'c - Anticomplentario.

REACTIVOS DE CONTROL DE LA PRUEBA DE MICROPLACA

	V.B.D.	Ag	c'		SISTEMA HEMOLITICO	GLOBULOS ROJOS NORMALES LAVADOS	LIMITE DE HEMOLISIS ACEPTABLE
Ag Anticomplementario	.025	.025	.025		.05		0
Ag Sistema Hemolítico Hemolisis	.05	.025		RIA	.05		+ 4
5.5 Unidades de c' al 50% de hemolisis	.05		.025	O MA	.05		0
2.75 Unidades de c' al 50% de hemolisis	.05		.025	C BAÑ	.05		<u>+</u> a 3
Ag 2.75 Unidades de c' al 50% de Hemolisis	.025	.025	.025	A 37	•05		<u>+</u> a 3
Sistema Hemolitico Hemolisis	.075			ORA	•05		<u>+</u> a 3
Sol. Stock Hemolisis	0.1			1 H		.025	+ 4
Complemento Hemolisis	.075		.025	UEAR		.025	+ 4
Ag Hemolisis	.075		.025	INC		.025	+ 4

(25)

V.B.D.-Solución Stock Ag - Antígeno c'- Complemento a) Incubar 20 minutos a 37°C baño maría.

b) Agitar.

c) Incubar 25 minutos a 37°C baño maría.

d) Refrigerar la placa 4°C 2 o 3 horas.

e) Interpretación de la prueba.

ESTA	

	0	10	20	25	30	40	50	60	70	75	80	90	100
SOLUCION DE HFMOGLOBINA (ml)	. 0	0.2	0.4	0.5	0.6	0.8	1.0	1.2	1.4	1.5	1.6	1.8	2.0
SUSPENSION DE GLOBULOS ROJOS AL 4% (ml)	2.0	1.8	1.6	1.5	1.4	1.2	1.0	0.8	0.6	0.5	0.4	0.2	C

(25)

	CUADRO DE	LA TITUL	ACION DE LA	HEMOLISINA	(Hiler	a 1) <u>CU</u>	ADRO 5
	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400
Solución Stock	9.9 cc	1	1	1	1	1	1
Hemolisina	.1						
Solución Stock	0.5	1 0.5	1,0.5	1,0.5	1	1 0.5	1,0.5
Complemento 5%		1	1 -	1	1	1	1
Solución Stock		2	2	2	2	2	2
Glóbulos Rojos	3%	1	1	1	1	1	1
			Hilera 2				
	1:150	1:300	1:600	1:1200	1:2400	1:4800	1:9600
Solución Stock	14.9 cc	1	1	1	1	1	1
Hemolisina	.1						
Solución Stock		1	1	1	1	1	1
	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Complemento 5%		1	1	1	1	1	$\mathcal{I}_1 \mathcal{I}$
Solución Stock		2	2	2	2	2	2
Glóbulos Rojos	3%	1	1	1	1	1	1

Incubar en baño maría 20 minutos a 37°C y leer inmediatamente después (24, 25)

[°] Una unidad

^{*} Dos unidades

CUADRO DE INTERPRETACION PRUEBA EN TUBO

Porcentaje de hemólisis

0%	++++	(4+)	Positivo
25%	+++	(3+)	Positivo
50%	++	(2+)	Positivo
75%	+	(1+)	Sospechoso
100%			Negativo

CUADRO DE INTERPRETACION PRUEBA MICROPLACA

Porcentaje de hemólisis

0%	++++	(4+)	Positivo
25%	+++	(3+)	Positivo
50%	++	(2+)	Positivo
75%	+	(1+)	Negativo
100%	-		Negativo

(24, 25)

RESULTADOS

A los 300 sueros se les corrió la prueba de Tamiz o de Pantalla con una dilución 1:5 para determinar los sueros positivos con un 50% de hemólisis, que fueron 28 sueros. A los sueros positivos a la prueba de Tamiz se les realizó la prueba con diluciones desde 1:5 a 1:320 para determinar el título final de anticuerpos de cada uno de ellos. Individualmente se les puso un control para determinar sueros anticomplementarios, en total resultaron 28 sueros positivos con títulos que varían de 1:10 al 1:160.

Positivos	a	la	dilución	1:5	-	0
•	"	••		1:10	_	1
	**	- 11		1:20	-	2
"	"	**		1:40	_	8
	'n	"	W *	1:80	_	13
1 - 1 - 1 - 1 - 1 - 1 - 1	**			1:160		4
11	**	**	11	1:320	_	0

RESULTADOS COMPARATIVOS DE LA PRUEBA DE TAMIZ O PANTALLA DE LAS 2 PRUEBAS CON DILUCION 1:5.

IDENT.	P. TUBO	P. MICROPLACA	IDENT.	P. TUBO	P. MICROPLACA
1	4 +	4 +	31	Neg.	Neg.
2	4 +	4 +	32	Neg.	Neg.
3	Neg.	Neg.	33	4 +	4 +
4	4 +	4 +	34	4 +	4 +
5	Neg.	Neg.	35	Neg.	Neg.
6	4 +	4 +	36	Neg.	Neg.
7	Neg.	Neg.	37	Neg.	Neg.
8	Neg.	Neg.	38	Neg.	Neg.
9	4 +	4 +	39	Neg.	Neg.
10	Neg.	Neg.	40	Neg.	Neg.
11	4 +	4 +	41	4 +	4 +
12	Neg.	Neg.	42	Neg.	Neg.
13	Neg.	Neg.	43	Neg.	Neg.
14	Neg.	Neg.	44	Neg.	Neg.
15	Neg.	Neg.	45	Neg.	Neg.
16	4 +	4 +	46	Neg.	Neg.
17	Neg.	Neg.	47	Neg.	Neg.
18	Neg.	Neg.	48	Neg.	Neg.
19	Neg.	Neg.	49	Neg.	Neg.
20	Neg.	Neg.	50	4 +	4 +
21	Neg.	Neg.	51	Neg.	Neg.
22	Neg.	Neg.	52	Neg.	Neg.
23	Neg.	Neg.	53	Neg.	Neg.
24	Neg.	Neg.	54	Neg.	Neg.
25	Neg.	Neg.	55	Neg.	Neg.
26	Neg.	Neg.	56	Neg.	Neg.
27	4 +	4 +	57	Neg.	Neg.
28	4 +	4 +	58	Neg.	Neg.
29	Neg.	Neg.	59	Neg.	Neg.
3 0 .	4 +	3 +	60	Neg.	Neg.

IDENT.	P. TUBO	P. MICROPLACA	IDENT.	P. TUBO	P. MICROPLACA
61	Neg.	Neg.	94	Neg.	Neg.
62	Neg.	Neg.	95	Neg.	Neg.
63	Neg.	Neg.	96	4+	4+
64	Neg.	Neg.	97	4+	4+
65	Neg.	Neg.	98	Neg.	Neg.
66	Neg.	Neg.	99	Neg.	Neg.
67	Neg.	Neg.	100	Neg.	Neg.
68	Neg.	Neg.	101	Neg.	Neg.
69	Neg.	Neg.	102	Neg.	Neg.
70	Neg.	Neg.	103	Neg.	Neg.
71	Neg.	Neg.	104	Neg.	Neg.
72	Neg.	Neg.	105	Neg.	Neg.
73	Neg.	Neg.	106	Neg.	Neg.
74	Neg.	Neg.	107	Neg.	Neg.
75	Neg.	Neg.	108	Neg.	Neg.
76	Neg.	Neg.	109	Neg.	Neg.
77	Neg.	Neg.	110	Neg.	Neg.
78	Neg.	Neg.	111	Neg.	Neg.
79	Neg.	Neg.	112	Neg.	Neg.
80	Neg.	Neg.	113	Neg.	Neg.
81	Neg.	Neg.	114	Neg.	Neg.
82	Neg.	Neg.	115	4 +	4 +
83	Neg.	Neg.	116	Neg.	Neg.
84	4 +	4 +	117	Neg.	Neg.
85	4 +	3 +	118	Neg.	Neg.
86	Neg.	Neg.	119	Neg.	Neg.
87	Neg.	Neg.	120	Neg.	Neg.
88	Neg.	Neg.	121	4 +	4 +
89	Neg.	Neg.	122	Neg.	Neg.
90	4 +	4 +	123	Neg.	Neg.
91	Neg.	Neg.	124	Neg.	Neg. Neg.
92	Neg.	Neg.	125	Neg.	
93	Neg.	Neg.	126 - 17 -	Neg.	№g.

IDENT.	P. TUBO	P. MICROPLACA	IDENT.	P. TUBO	P. MICROPLACA
127	Neg.	Neg.	160	Neg.	Neg.
128	Neg.	Neg.	161	Neg.	Neg.
129	Neg.	Neg.	162	Neg.	Neg.
130	Neg.	Neg.	163	Neg.	Neg.
131	Neg.	Neg.	164	Neg.	Neg.
132	Neg.	Neg.	165	Neg.	. Neg.
133	Neg.	Neg.	166	Neg.	Neg.
134	Neg.	Neg.	167	4 +	4 +
135	Neg.	Neg.	168	Neg.	Neg.
136	Neg.	Neg.	169	Neg.	Neg.
137	Neg.	Neg.	170	Neg.	Neg.
138	Neg.	Neg.	171	Neg.	Neg.
139	Neg.	Neg.	172	Neg.	Neg.
1 40	Neg.	Neg.	173	Neg.	Neg.
141	Neg.	Neg.	174	Neg.	Neg.
142	Neg.	Neg.	175	Neg.	Neg.
143	Neg.	Neg.	176	Neg.	Neg.
144	Neg.	Neg.	177	Neg.	Neg.
145	Neg.	Neg.	- 178	Neg.	Neg.
146	Neg.	Neg.	179	3 +	3 +
147	Neg.	Neg.	180	Neg.	Neg.
148	Neg.	Neg.	181	Neg.	Neg.
149	Neg.	Neg.	182	Neg.	Neg.
150	Neg.	Neg.	. 183	Neg.	Neg.
151	Neg.	Neg.	184	Neg.	Neg.
152	Neg.	Neg.	185	Neg.	Neg.
153	Neg.	Neg.	186	Neg.	Neg.
154	Neg.	Neg.	187	Neg.	Neg.
155	Neg.	Neg.	188	Neg.	Neg.
156	Neg.	Neg.	189	Neg.	Neg.
157	Neg.	Neg.	190	Neg.	Neg.
1 58	Neg.	Neg.	191	Neg.	
159	Neg.	Neg.	192	Neg.	Meg.

IDENT.	P. TUBO	P. MICROPLACA	IDENT.	P. TUBO	P. MICROPLACA
193	Neg.	Neg.	226	Neg.	Neg.
194	Neg.	Neg.	005	Nog	Neg.
195	Neg.	№eg.	227 228	Neg.	Neg.
196	Neg.	Neg.	229	Neg.	Neg.
197	Neg.	Neg.	230	Neg.	Neg.
198	Neg.	Neg.	231	Neg.	Neg.
199	Neg.	Neg.	232	Neg.	Neg.
200	Neg.	Neg.	233	Neg.	Neg.
201	Neg.	Neg.	234	Neg.	Neg.
202	Neg.	Neg.	235	Neg.	Meg.
203	Neg.	Neg.	236	Neg.	Neg.
204	Neg.	Neg.	237	Neg.	Neg.
205	Neg.	Neg.	238	Neg.	Neg.
206	Neg.	Neg.	239	Neg.	Neg.
207	Neg.	Neg.	240	Neg.	Neg.
208	Neg.	Neg.	241	Neg.	Neg.
209	Neg.	Neg.	242	4 +	4 +
210	Neg.	Neg.	243	Neg.	Neg.
211	1 +	1 +	244	Neg.	Neg.
212	Neg.	Neg.	245	Neg.	Neg.
213	Neg.	Neg.	246	Neg.	Neg.
214	Neg.	Neg.	247	Neg.	Neg.
215	Neg.	Neg.	248	Neg.	Neg.
216	Neg.	Neg.	249	Neg:	Neg.
217	Neg.	Neg.	250	Neg.	Neg.
218	Neg.	Neg.	251	Neg.	Neg.
219	Neg.	Neg.	252	Neg.	Neg.
220	4 +	4 +	253	Neg.	Neg.
221	Neg.	Neg.	254	Neg.	Neg.
222	Neg.	Neg.	255	Neg.	Neg.
223	Neg.	Neg.	256	Neg.	Neg.
224	Neg.	Neg.	257	Neg.	Neg.
225	Neg.	Neg 1	258 9 -	Neg.	Neg.

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
BIBLIOTECA - UNAM

IDENT.	P. TUBO	P. MICROPLACA	IDENT.	P. TUBO	P. MICROPLACA
259	Neg.	Neg.	291	Neg.	Neg.
260	Neg.	Neg.	292	3 +	3 +
261	Neg.	Neg.	293	Neg.	Neg.
262	Neg.	Neg.	294	Neg.	Neg.
263	Neg.	Neg.	295	Neg.	Neg.
264	Neg.	Neg.	296	Neg.	Neg.
265	Neg.	Neg.	297	Neg.	Neg.
266	Neg.	Neg.	298	Neg.	Neg.
267	Neg.	Neg.	299	Neg.	Neg.
268	Neg.	Neg.	300	Neg.	Neg.
269	Neg.	Neg.			
270	Neg.	Neg.			
271	Neg.	Neg.			
272	Neg.	Neg.			
273	Neg.	Neg.			
274	Neg.	Neg.			
275	Neg.	Neg.			
276	Neg.	Neg.			
277	Neg.	Neg.			
278	Neg.	Neg.			
279	Neg.	Neg.			
280	Neg.	Neg.			
281	1 +.	1 +			
282	Neg.	Neg.			
283	Neg.	Neg.			
284	Neg.	Neg.			
285	Neg.	Neg.			
286	Neg.	Neg.			
287	Neg.	Neg.			
288	Neg.	Neg.			
289	Neg.	Neg.			

Neg.

290

. Neg.

RESULTADOS COMPARATINOS DE LAS DOS PRUEBAS CON DILUCIONES DE 1:5 A 320

SUEROS	IDENTIFICACION	PRUEBA EN TUPO	PRUEBA EN MICROPLACA
1	1	1:80	1:80
2	2	1:160	1:160
3	4	1:80	1:80
4	6	1:80	1:80
5	9	1:40	1:40
6	11	1:40	1:40
7	16	1:80	1:80
8	27	1:80	1:80
9	28	1:80	1:80
10	30	1:40	1:40
11	33	1:80	1:80
12	34	1:80	1:80
13	41	1:160	1:160
14	5C	1:20	. 1:20
15	84	1:20	1:20
16	85	1:40	1:40
17	90	1:40	1:40
18	96	1:16C	1:160
19	97	1:160	1:160
20	115	1:40	1:40
21	121	1:40	1:40
22	167	1:80	1:80
23	179	1:80	1:80
24	211	1:10	1:10
25	220	1:40	1:40
26	242	1:80	1;80
27	281	1:80	1:80
28	292	1:80	1:80

DISCUSION

- La prueba de Fijación de complemento en Microplaca es tan sensible como la prueba de tubo y es definitivamente un procedimiento de diagnóstico potencial.
- 2) La utilización de reactivos para esta prueba tales como *Antígeno <u>Piroplasma equi</u>, complemento, Hemolisina y Glóbulos rojos, es mínimo lo que reduce el costo de la prueba.

^{*} El Antigeno de <u>Piroplasma equi</u> se tiene que importar de E.E.U.U., ya que no se produce en México.

CONCLUSIONES

- 1) Especificidad de la prueba.

 La prueba de fijación de complemento en Microplaca fue positiva en aquellos equinos con infecciones causadas por Piroplasma equi y cuya detección serológica fue semejante a la obtenida en la prueba de fijación de complemento en tubo obteniéndo se en ambas pruebas semejantes títulos de anticuerpos.
- 2) La cantidad de equinos serológicamente positivos a ambas prue bas es importante ya que se trata de animales de alto valor económico y que se mantienen como portadores inaparentes de la enfermedad.
- 3) Se obtuvieron 28 sueros positivos a ambas pruebas, todos ellos con diluciones que variaron de 1:10 a 1:160 que representan el 9.33% del total de animales muestreados.
- 4) Los resultados obtenidos en las pruebas de microplaca son idénticos a los obtenidos en las pruebas de tubo.

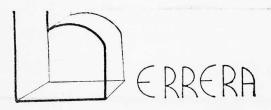
BIBLIOGRAFIA

- 1. Catcott E.J. Smithcors J.F. Equine Medicine and Surgery. Second Edition. American Veterinary Publications Illinois 1972: 137-144.
- 2. Castillo Monroy America Brissa, Jefe de la Sección de Pruebas Se rologías en Equinos de la Subdirección de Referencia en Salud Animal. Comunicación personal.
- 3. Ensminger M.E., Producción Equina, Cuarta Edición, Editorial Labor, 1969. 325-326.
- 4. F.D. Maurer D.V.M, Ph. D. Equine Piroplasmosis. Another Emerging Disease. Am. J. Vet. Res. U.S. Department of Agriculture. Vol. 141: 699-702 (1962).
- 5. Frerichs W.M. Johnson S.J. and Holbrook S. S Equine Piroplasmosis, Attempts to infect Laboratory Animals with Babesia equi. Am. J. Vet. Res. U.S. Department of Agriculture. Vol. 30: 1333-1336 (1969).
- 6. Frerichs W.M. Holbrook S.S and Johnson A.J. Equine Piroplasmosis, Complement Fixation Titers of Horses Infected with <u>Babesia caballi</u>; Am. J. Vet. Res. U.S. Department of Agriculture. Vol. 30: 697-702 (1969).
- 7. Frerichs W.M. Holbrook S.S and Johnson A.J. Equine Piroplasmosis, Production of Antigen for the Complement Fixation Test. Am.J. Vet. Res. U.S. Department of Agriculture. Vol. 30: 1337-1341 (1969).
- 8. Hagan and Bruner's. Infectious Diseases of Domestic Animals, Seven th Edition, Published by Cornell University, Press. 1981, 323-327.

- 9. Holbrook S.S Johnson A.J. and Madden P.S Equine Piroplasmosis Intracrythrocytic. Development of <u>Babesia caballi</u> (nuttall) an <u>Babesia equi</u> (Laveran). Am J. Vet. Res. U.S. Department of Agriculture Vol. 129: 297-303 (1968).
- 10. H. Hugh Fudenberg, Daniel P. Stites, Josepit L. Caldwell J. vivian wells. Manual de Inmunología Clínica, Segunda edición, Editorial El Manual Moderno 1980: 415-419.
- 11. Hutyra, Marek, Manninger and Mocsy Patología y Terapéutica Especiales, de los animales Domésticos Segunda Edición tomo I, Editorial Labor 1973: 343-349.
- 12. Ian. R. Tizard Inmunología Veterinaria, Primera Edición en Español, Editorial Interamericana 1979: 122, 135-147, 153, 319, 350, 354.
- 13. Knowles R.C. Mathis R.M. John E.B, and Willers, K.H. Equine Piroplasmosis, Am. J. Vet. Medical Association U.S. Department of Agriculture Vol. 148: 407-409 (1966).
- 14. Lara S.J. Fernando G. Encuesta Serológica contra <u>Babesia equi</u> en Caballos de Salto del Valle de México Utilizando la Prueba de Fijación de Complemento, Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. U.N.A.M. México, D.F., 1981.
- 15. Lapage G. Parasitología Veterinaria, Cuarta Edición, Editorial Continental, 1976: 621-622 y 670-672.
- 16. Levine N.D. Protozoo an Parasites of Domestic Animals an on man, Second Edition, Burgess Publishing Company 1973: 329-331.
- 17. Merchant I.S. David R.P. Infectious Diseases of Domestic Animal, Second Edition, Iowa state University Press 1964: 401.

- 18. Marek S.D the Marek Veterinary Manual, Fifth Edition Published by Marek and Co. I.N.C.N.S. U.S.A. 1979: 426-430 y 740-742.
- 19. Osorno M.F. Estudio Recapitulativo de la Babesia en México Revista Veterinaria U.N.A.M. México: Vol. 9: 203-218: (1979).
- 20. Osorno M.E. y Solana P.M. Aislamiento e Identificación de <u>Babesia equi</u> y <u>Babesia caballi</u> en caballos de México, <u>Técnica Pecua</u> ria en México (I.N.I.P.) S.A.G. Vol. 20: 4-44: 1972.
- 21. Richard R. Kudo Protozoología, Cuarta Impresión, Editorial Continental, 1976: 586-588.
- 22. Sibinovic S. Sibinovic K.H. Ristic M. Equine Babesiosis Diagnosis by Bentonite Aglutination and passive Hemaglutination Test.

 Am. J. Vet. Res. U.S. Department of Agriculture. Vol. 30: 691-695 (1969).
- 23. Thomas e Ameraul, B.S. Wayne M. Frerichs, Dum. P.H.D. David Stiller P.H.D. Comparative Serologic Study of Equine Piroplasmosis With Card and Complement Fixation Tests. Am. J. Vet. Res. U.S. Department of Agriculture. Vol. 40: 529-531 (1979).
- 24. U.S. Department of Agriculture Equine Piroplasmosis the Complement Fixation for the tube Test, National Veterinary Services, Laboratories, Ames Iowa U.S.A. 1977.
- 25. U.S. Department of Agriculture Equine Piroplasmosis the Complement Fixation Test Microtiter National Veterinary Services Laboratories, Ames, Iowa U.S.A. 1977.



Tesis por computadora único sistema en el país

Paseo de las Facultades No. 32-C Ciudad Universitaria

6-58-70-44 6-58-70-33



FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA UNAM

UNAM 1983/D832

ECA





FECHA D	E ENTREGA