

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO



FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y
ZOOTECNIA

EVALUACION DE LAS TECNICAS DE INMUNODIFU-
SION Y CONTRA INMUNOELECTROFORESIS EN EL
DIAGNOSTICO DEL LINFOSARCOMA BOVINO

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A :
J O S E P E R E Z

ASESORES:

M. V. Z. JUAN GAY GUTIERREZ
M. V. Z. EMETERIO SALDIVAR ZUÑIGA



MEXICO, D. F.

1984



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

UNAM
1984
P475
e.j. b

P-t-84-16b



A MIS PADRES:

SR. LAURO OSORIO CRUZ

SRA. JOSEFINA PEREZ ORTIZ

Con eterna gratitud por darme
la vida y haber depositado fé
en mí para conducirme por el-
camino de la superación, todo
mi amor, respeto y admiración.

SR. JESUS AVILES REYES

SRA. MELDA OSORIO PEREZ

Quienes con sus esfuerzos,
cariño y comprensión, man
tuvieron en mí la firme -
voluntad de culminar mi -
profesión.

Ma. CRISTINA:

Que compartió mis horas de
estudiante y fué estímulo
para terminar mi carrera.

CON AMOR PARA:

XOCHITL YESENIA

MIRIAM LORENA

A MIS QUERIDOS HERMANOS:

LIDIA

IMELDA

MANUEL

LAURO

CARMELO

Agradezco su valioso apoyo que me-
dieron e hicieron posible la reali-
zación de mi ~~carrera~~.

A MIS SOBRINOS:

MOISES JESUS

CARLOS CESAR

VERONICA LAURA

A MI FACULTAD:

Con Agradecimiento.

A MIS MAESTROS:

Por su valiosa aportación en
mi formación profesional.

A MIS ASESORES:

M.V.Z. JUAN GAY GUTIERREZ

M.V.Z. EMETERIO SALDIVAR ZUÑIGA

Por todo lo recibido, con quienes
tengo una deuda inexpresable, por
brindarme sus conocimientos, apo-
yo y amistad.

AL M.V.Z. VICTOR M. CAMPOS GONZA
LEZ:

Por las facilidades permitidas
en el Depto. de Alta Seguridad
de la SURESA para la realiza--
ción del presente trabajo.

AL M.V.Z. ANGEL RETANA REYES:

Por su ayuda desinteresada en la
realización del presente trabajo.

A TODOS MIS COMPAÑEROS Y AMIGOS DE LA FMVZ.

A MI HONORABLE JURADO POR LAS SABIAS
CORRECCIONES Y LA FORMACION BRINDADA.

M.V.Z. NORBERTO VEGA ALARCON

M.V.Z. JUAN JOSE ROMANO PADRO

M.V.Z. SANTIAGO AJA GUARDIOLA

M.V.Z. MA. DE LOS ANGELES ROA RIOL

M.V.Z. VALERIO RIVERO MEDINA

La realización del presente trabajo se llevó a cabo en el Laboratorio de Alta Seguridad de la Subdirección de Referencia en Salud Animal, de la S.A.R.H. Km. 37 1/2 carretera México-Pachuca, - Tecamac de F. V. Edo. de México.

C O N T E N I D O

	Pág.
I.- RESUMEN	1
II.- INTRODUCCION	2
III.- OBJETIVOS	10
IV.- MATERIAL Y METODOS	12
V.- RESULTADOS	14
VI.- DISCUSION	33
VII.- CONCLUSIONES	35
VIII.- BIBLIOGRAFIA	36

I.- R E S U M E N.

" EVALUACION DE LAS TECNICAS DE INMUNODIFUSION
Y CONTRAINMUNOELECTROFORESIS EN EL DIAGNOS--
TICO DEL LINFOSARCOMA BOVINO "

Autor: JOSE PEREZ.

Asesores: M.V.Z. Juan Gay Gutiérrez.

M.V.Z. Emetrio Saldivar Z.

Mediante el uso de las técnicas de contrainmunoelectroforesis e inmunodifusión, se trabajaron 400 sueros de bovinos mayores de 3 años de edad de raza Holstein Friesian, de la Cuenca Lechera Tizayuca, Edo. de Hidalgo.

La técnica de contrainmunoelectroforesis resultó ser más específica y sensible para determinar anticuerpos contra el virus del Linfosarcoma bovino.

Por la técnica de inmunodifusión se observó una -- frecuencia del 27% (108 sueros reactores positivos) y 33% por medio de la técnica de contrainmunoelectroforesis (132 sueros reactores positivos), obteniéndose 24 sueros positivos más - por contrainmunoelectroforesis (6%).

La lectura para inmunodifusión fué de 24-48 horas - y para la técnica de contrainmunoelectroforesis fué a las 6 - horas, aunque se manifestó más claramente a las 12 horas.

II.- I N T R O D U C C I O N .

El Linfossarcoma bovino, conocido también como Leuce^umia bovina, Leucosis bovina, Linfoma maligno, Linfomato^osis, Linfocitoma, Linfoblastoma, Leucosis linfoide, Pseudo^o-leucemia, Linfocitomatosis bovino, Linfossarcomatosis, -- Linfadenosis y el discutido término de Leucemia aleucémica (2, 3, 4, 6, 7, 16, 17, 21, 28, 30, 33, 36,).

El linfossarcoma es una enfermedad linfoproliferativa neoplásica fatal del ganado bovino, para la cual no se ha ^odescubierto predisposición de raza o sexo, teniendo manifes^otaciones clínicas y patológicas variables (6, 12, 24, 28, - 35,).

Las enfermedades neoplásicas de los leucocitos constituyen quizá el grupo más frecuente e importante de las ^oneoplasias en los animales domésticos, sobre todo en el ganado bovino,. Se han registrado en todas las especies y ^oson por regla general malignas, caracterizándose por la ^oaparición de acúmulos de linfocitos neoplásicos en casi todos los órganos durante los estados avanzados de la enfer^omedad (6, 17, 18, 27, 33,).

Esta enfermedad parece ser que se originó en el Es^ote de Alemania y Polonia, difundiéndose a lo largo de la ^ocosta del Mar Báltico. El movimiento masivo del ganado durante y después de la primera y segunda guerras mundiales, ^oasí como por el comercio del ganado Europeo a ciudades de ^oNorteamérica y de aquí a otras ciudades del Continente Ame^o

ricano, ha contribuido a la diseminación de la enfermedad. - En la actualización, la presencia de la enfermedad se ha reportado en Europa, Norte y Sudamérica y en algunas ciudades de Asia (6, 7, 21, 24,).

En Europa, las primeras descripciones de la enfermedad fueron hechas por Leisering en 1871 quien la describe como "Weisses Blut" (sangre blanca), nombre con el que se conocía ésta alteración en humanos por los trabajos de Virchow, Siedamgrotzky en 1876 y por Johne en 1878. De esa época a la fecha se han realizado múltiples investigaciones sobre todo en países como Dinamarca, la República Demócrata Alemana, República Federal Alemana, la U.R.S.S., Polonia, Suecia, Finlandia, Holanda e Inglaterra (1, 7, 16, 21,). En la actualidad representa un problema epizootiológico de tal magnitud en éstos países que se considera como una enfermedad de denuncia obligatoria, tanto por las pérdidas que causa a la economía, como por los aspectos en salud pública, relacionados con la posible transmisión hacia el humano por medio de la leche y el calostro de vacas infectadas por el virus (4, 24, 37,). Sin embargo múltiples autores entre los que sobresalen Welsh et al (38), han demostrado la capacidad del suero fresco humano para producir lisis espontánea de los retrovirus en ausencia de anticuerpos, gracias a la activación del complemento, lo que al presente hace aventurado considerar al virus del linfosarcoma bovino como un problema de salud pública.

En México, el linfosarcoma bovino es una enfermedad-

de reciente investigación, ya que los reportes de su presencia en el país, detectados mediante estudios post-mortem, clínicos y hematológicos, datan del año de 1967 (4,36,), y más recientemente en 1973, 1975 y 1979; estos trabajos indican que es conveniente investigar la prevalencia del Linofosarcoma bovino -- en el país (3, 16, 28, 30, 33).

Una investigación realizada en 1983 por la Subdirección de Referencia en Salud Animal utilizando la técnica de inmunodifusión para detectar anticuerpos contra el virus del Linfomasarcoma bovino en 16 estados de la República Mexicana, arrojó los siguientes resultados (34).

"ANTICUERPOS DETECTADOS CONTRA EL VIRUS DEL LINFOSARCOMA BOVINO EN 16 ESTADOS DE LA REPUBLICA MEXICANA EN GANADO BOVINO -- PRODUCTOR DE LECHE Y CARNE".

<u>Ganado bovino productor de leche.</u>		<u>Ganado bovino productor de carne.</u>	
Estado	%	Estado	%
Michoacan	6/15 (40.0%)	Veracruz	5/72 (6.9%)
B. Califor nia	13/29 (44.8%)	Sonora sur	2/155 (1.3%)
Hidalgo	459/1251 (36.6%)	Sonora norte	0/102 (0%)
Jalisco	17/49 (34.7%)	Durango	0/135 (0%)
Nuevo León	6/27 (22.2%)	B. California	0/167 (0%)
Querétaro	8/24 (33.3%)	Yucatán	9/79 (11.8%)
Guanajuato	19/51 (37.3%)	Guerrero	12/194 (6.1%)
Durango	4/30 (13.3%)	San Luis Potosí	4/40 (10.0%)
Edo. Méx.	9/22 (40.0%)	Jalisco	7/94 (7.4%)
<u>T o t a l</u>	<u>541/1498 (38.1%)</u>	Coahuila	4/76 (5.2%)
		Chihuahua	8/160 (5.0%)
		<u>T o t a l</u>	<u>51/1271 (4.06)</u>

Comparando los porcentajes de positividad obtenidos entre el ganado bovino productor de leche y carne, el primero fué más elevado, lo anterior tal vez se debe al mayor contacto directo entre animales, y a su prolongada vida productiva, habiendo de esta manera mayores posibilidades de transmisión en forma horizontal (6, 17, 24,).

Tipos de Linfosarcoma bovino.

Con base en su epidemiología, el Linfosarcoma bovino puede dividirse en dos tipos: Linfosarcoma esporádico y enzoótico.

El linfosarcoma bovino esporádico incluye: Linfosarcoma del becerro, Linfosarcoma tímico y Linfosarcoma cutáneo (3, 6, 7, 8, 16, 18, 24, 28, 30,).

Linfosarcoma bovino enzoótico, es el que se considera sinónimo de Leucosis bovina, es una enfermedad infecciosa inducida por un virus que afecta al ganado bovino mayor de 3 años de edad. Las observaciones epizootiológicas señalan su naturaleza enzoótica. Hay pruebas que apoyan la opinión de que la incidencia se ha incrementado en zonas enzoóticas y se ha extendido a otras regiones por la introducción de animales portadores a los hatos libres (2, 6, 16, 17, 18, 21, 14,). En esta forma de enfermedad el cuadro hemático puede ser extraordinariamente variable, suelen considerarse como datos importantes, el aumento de los leucocitos en un 15% ó más sobre los valores normales y la presencia de un 25% de linfocitos inmaduros atípicos (6, 17, 28 - 30,). Esta forma de presentación en contraste con la for-

ma esporádica tiene una incidencia alta y no ha sido asociadas con base en su etiología (6, 17, 24, 32,). En la mayoría de los casos de Linfosarcoma bovino enzoótico, puede realizarse la detección de anticuerpos, mientras que en la forma esporádica no es posible (24).

Etiología.

El agente causal es un virus que fué aislado por Miller et al en 1969 (22), en 1976 fué identificado por Diglio y Ferrer, quienes infectaron células en cultivo celular, observando efecto citopatogénico caracterizado por la formación de sincitios (5, 8, 13, 24, 32,).

El virus pertenece a la familia Retroviridae, subfamilia oncovirinae, género oncovirus tipo C, se caracteriza por tener un tamaño aproximado de 100-120 nanómetros, su genoma está constituido por ácido ribonucleico (ARN) en forma de banda simple y con simetría helicoidal, es envuelto y tiene apariencia icosaédrica (5, 8, 24, 29, 32,).

Las proteínas estructurales de la cápside, son en su mayoría proteínas con un peso molecular de 24 000 (p24) La envoltura es un glicoproteína antigénica con un peso molecular de 51 000 (gp51) (8, 14, 24,).

Modo de transmisión. Se consideran las siguientes formas de transmisión.

1.- Transmisión por contacto.

a) Por medio de insectos hematófagos.

- b) Por instrumentos contaminados utilizados durante las transfusiones de sangre e instrumentos quirúrgicos.
 - c) Por contacto directo entre animal y animal.
- 2.- Transmisión vertical o congénita.
- a) Se lleva a cabo de madre a crías, por medio de una infección intrauterina.
- 3.- Transmisión por medio del calostro.
- a) Al beber los becerros calostro o leche de vacas infectadas (6, 8, 24, 28, 30).

Patogenia.

El virus se introduce al animal susceptible, ya sea durante el período fetal (transmisión vertical), o al principio de la postnatal (transmisión por contacto o por medio del calostro). Después de un período latente de duración variable, el virus comienza a actuar sobre las células del sistema linforreticular, el animal entra en una fase subclínica de la enfermedad, ésta se caracteriza por una linfocitosis, muchas veces persistente durante varios años quizá toda la vida productiva, sin causar ningún trastorno aparente (28). Algunos animales pueden pasar a la fase clínica, donde los cambios neoplásicos causan una enfermedad aguda o crónica, siempre fatal (6, 16, 17, 24, 28, 30, 32).

Métodos que se han utilizado para el diagnóstico.

a) Clínico. Dada la amplia gama de signos, es a menudo difícil de formular un diagnóstico positivo a Linfosarcoma, en el examen clínico deben apreciarse; aumento de tamaño de los ganglios linfáticos explorables, emaciación, anormalidades cardíacas, nerviosas, digestivas, problemas respiratorios y reproductivos, pérdida progresiva de peso y baja de la producción láctea (6, 16, 17, 37).

b) Hematológico. Se basa en la detección de un aumento de la cantidad de linfocitos por mm³ en la sangre, en función de la edad y basándose en la clave de Tolle (28). Aunque hay otras "claves" como la de Bendixen y Theilen, la de Tolle continúa considerándose como la más completa. No siempre es posible apegarse a estas claves para diagnosticar un caso de Linfosarcoma bovino, debido en gran parte a que el bovino presenta factores tales como la edad, que pueden alterar esta cuenta leucocitaria en forma más significativa, como sucede en casos de abscesos hepáticos o peritonitis purulenta crónica (3, 16, 30, 37).

c) Histopatológico. Los tejidos afectados por el Linfosarcoma bovino, presentan infiltración de células inmaduras comprimiendo tejidos adyacentes, entre estas células es frecuente encontrar formas de mitosis, lo que indica presencia de una neoplasia maligna (3, 16, 37).

d) Inmunofluorescencia indirecta. En este método, los

anticuerpos del suero problema que reaccionan con el virus del Linfosarcoma bovino, son a su vez los antígenos contra los que va dirigido el conjugado específico (8, 14, 19, 24, 37).

e) Fijación de complemento. Evalúa la concentración de anticuerpos fijadores del complemento en animales infectados con el virus del Linfosarcoma bovino (11, 14, 24).

f) Seroneutralización. En la cual se mide la capacidad de los anticuerpos para neutralizar la infectividad viral (11, 14, 24).

g) Ensayo inmunoenzimático (ELISA). Se basa en el uso de antígenos o anticuerpos marcados con una enzima, de forma que los conjugados resultantes tengan actividad tanto inmunológica como enzimática (8, 14, 31).

h) Inmunodifusión. Es una prueba, que nos indica la presencia de anticuerpos en un animal reactor positivo, precipitando los anticuerpos del suero, contra un antígeno glicoproteico específico del virus del Linfosarcoma bovino (9, 10, 14, 24).

La base de la prueba de inmunodifusión en gel es la migración concurrente del antígeno y anticuerpo a través del agar gel, conteniendo una alta concentración en sales, esta es necesaria para acrecentar la formación de inmunoprecipitación, así como el antígeno y el anticuerpo se combinan

específicamente, forman un precipitado que es detenido en el gel, esto produce una línea visible de inmunoprecipitación (10,37).

Las líneas de precipitación se forman donde la concentración de antígeno y anticuerpo son óptimos; una variación extrema de la concentración ya sea de antígeno o de anticuerpo alterará la localización y aparición de la línea de precipitación, hay otros factores que pueden alterar la reacción de inmunodifusión, como la variación de la concentración de electrolitos, el pH y la temperatura, así como un alto contenido en lípidos (9, 10, 37).

i) Contraimmunolectroforesis. Basada en la migración del antígeno y el anticuerpo en un campo eléctrico, para acelerar la reacción que dá el resultado final (10, 15, 20, 23, 25, 26).

La técnica de contraimmunolectroforesis es similar a la prueba de Ouchterlony simple, pero se considera más rápida y sensible la primera, ya que el antígeno y el anticuerpo migran el uno hacia el otro, en vez de difundir radialmente (15, 26).

III.- O B J E T I V O S.

Establecer el diagnóstico de laboratorio del Linfosarcoma bovino, con base en las técnicas de inmunodifusión y contraimmunolectroforesis, comparar la sensibilidad y especificidad de ambas técnicas y valorar la factibilidad de su

uso en laboratorios de los Centros de Patología Animal de -
la Dirección General de Salud Animal dependientes de la S.-
A.R.H.

Objetivos específicos:

- a) Demostrar cual de las dos técnicas es más específica y sensible en el análisis de sueros de animales sospechosos al Linfosarcoma bovino.
- b) Comparar cual de las dos técnicas es más rápida -- en cuanto a tiempo de lectura se refiere.

IV.- MATERIAL Y METODOS

Antígeno*.

Se utilizó una glicoproteína (gp51) obtenida de una línea celular ovina, infectada persistentemente con el virus del Linfosarcoma bovino.

Antisuero*.

Contra el antígeno glicoproteico del virus del Linfosarcoma bovino, con capacidad de producir líneas específicas de precipitación, producido en ovino.

Suero negativo bovino*.

Libre de anticuerpos contra el antígeno glicoproteico y que no produce líneas de precipitación en el gel, ni desvía la línea control positiva.

Suero positivo bovino*.

El cual contiene anticuerpos para el antígeno glicoproteico y produce línea de identidad con la línea control.

Sueros problema*

400 sueros de ganado bovino productor de leche, mayor de 3 años de edad de raza Holstein Friesian, de la - -

* Proporcionado por la Subdirección de Referencia en Salud-Animal, S.A.R.H., Km 37 1/2 carretera México-Pachuca, Tecamac de F.V. Edo. de México.

Cuenca Lechera Tizayuca, Edo. de Hidalgo.

Técnica de inmunodifusión.

Se realizó de acuerdo a la técnica descrita por Co--
ggins et al en 1979 (9).

Técnica de contraimmunolectroforesis.

Se realizó de acuerdo a la técnica descrita por Poli
et al en 1980 (26), con las siguientes modificaciones: se
utilizó pH 8.6 en lugar de 9, Agar Noble Especial al 1% --
en sustitución de agarosa al .85% y se aplicó un voltaje de
200 durante 2 horas en vez de 400 voltios durante 4 horas.

V.- RESULTADOS.

En la Fig. 1, se esquematiza la interpretación de la técnica de inmunodifusión; donde se observan: los controles (C), dos casos positivos- (74, 76) y dos negativos (75, 77).

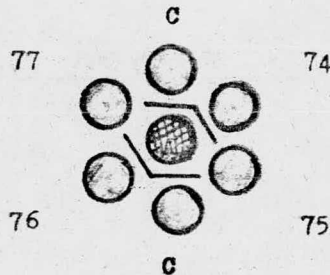


Fig. 1. Técnica de inmunodifusión. El antígeno se encuentra en el pozo - central (gp51), suero control positivo en los pozos C, sueros positivos- bovinos, muestra 74 y 76 y sueros negativos bovinos, muestra 75 y 77.

En la Fig. 2, se esquematiza la interpretación de la técnica de -- contraelectroforesis, los dos primeros pozos superiores son los--- controles, en los pozos del lado del cátodo se coloca el antígeno (gp51) y en el lado del ánodo se colocan los sueros problema.

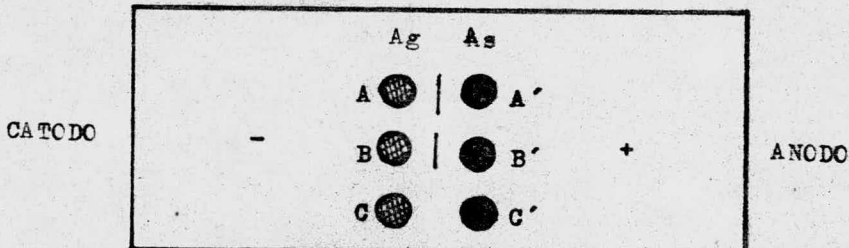


Fig. 2 Técnica de Contraelectroforesis. Control positivo (A, A'), - suero bovino positivo (B, B'), muestra No. 74, suero bovino negativo - - (C, C'), muestra No. 75.

De los 400 sueros de bovino, raza Holstein, mayores-- de 3 años de edad, utilizando las técnicas de inmunodifusión y contraelectroforesis comparativamente, se obtuvieron los siguientes resultados:

Número	No. SURESA	Caso SURESA	R E S U L T A D O	
			I. D.	CIEF
1	1	2104 EC-190	-	-
2	5	" "	+	+
3	9	" "	+	+
4	13	" "	-	-
5	18	" "	-	-
6	19	" "	-	-
7	20	" "	-	-
8	21	" "	+	+
9	22	" "	-	-
10	24	" "	-	-
11	27	" "	+	+
12	29	" "	-	-
13	30	" "	-	-
14	31	" "	-	-
15	32	" "	+	+
16	34	" "	-	-
17	37	" "	+	+
18	41	" "	+	+
19	42	" "	+	+

Número	No. SURESA	Caso SURESA	R E S U L T A D O	
			I. D.	CIEF
20	45	2104 EC-190	-	-
21	48	" "	-	-
22	49	" "	-	-
23	50	" "	+	+
24	51	" "	+	+
25	52	" "	-	-
26	54	" "	-	-
27	55	" "	+	+
28	56	" "	+	+
29	57	" "	+	+
30	59	" "	+	+
31	60	" "	-	-
32	63	" "	+	+
33	64	" "	+	+
34	65	" "	-	-
35	66	" "	-	-
36	67	" "	-	-
37	68	" "	-	-
38	70	" "	-	-
39	71	" "	+	+
40	72	" "	+	+
41	73	" "	+	+
42	75	" "	+	+
43	77	" "	-	-

Número	No. SURESA	Caso SURESA	R E S U L T A D O	
			I. D.	CIEF
44	78	2104 EC-190	-	-
45	79	" "	-	-
46	1	142	-	-
47	2	"	+	+
48	3	"	-	-
49	4	"	-	-
50	6	"	-	+
51	7	"	+	+
52	8	"	-	-
53	11	"	-	-
54	13	"	-	-
55	14	"	-	-
56	15	"	-	-
57	16	"	+	+
58	18	"	+	+
59	19	"	-	-
60	20	"	+	+
61	23	"	-	-
62	24	"	-	-
63	25	"	-	-
64	27	"	+	+
65	28	"	-	-
66	29	"	+	+

Número	No. SURESA	Caso SURESA	R E S U L T A D O	
			I. D.	CIEF.
67	30	142	-	-
68	32	"	-	-
69	33	"	-	-
70	35	"	-	-
71	36	"	-	-
72	37	"	+	+
73	38	"	+	+
74	39	"	-	-
75	41	"	-	-
76	42	"	+	+
77	43	"	-	-
78	44	"	-	-
79	45	"	-	-
80	46	"	-	-
81	47	"	-	-
82	48	"	-	-
83	49	"	-	-
84	51	"	-	-
85	57	"	+	+
86	59	"	+	+
87	60	"	+	+
88	61	"	-	-
89	62	"	-	-
90	65	"	-	-

Número	No. SURESA	Caso SURESA	R E S U L T A D O	
			I. D.	CIEF.
91	67	142	-	-
92	68	"	+	+
93	69	"	-	-
94	70	"	-	-
95	73	"	-	-
96	74	"	-	-
97	75	"	-	-
98	76	"	-	-
99	77	"	-	-
100	79	"	-	-
101	80	"	+	+
102	81	"	-	-
103	83	"	-	-
104	84	"	-	-
105	85	"	-	-
106	86	"	-	-
107	87	"	-	+
108	88	"	-	-
109	89	"	-	-
110	90	"	+	+
111	91	"	-	-
112	92	"	-	-
113	93	"	-	-
114	96	"	+	+

Número	No. SURESA	Caso SURESA	R E S U L T A D O	
			I. D.	CIEF.
115	97	142	-	-
116	98	"	-	-
117	99	"	+	+
118	100	"	+	+
119	102	"	-	-
120	103-A	"	-	-
121	104	"	-	-
122	106	"	-	-
123	107	"	-	-
124	108	"	-	-
125	109	"	-	-
126	111	"	-	+
127	112	"	-	-
128	114	"	-	-
129	115	"	-	-
130	116	"	-	-
131	117	"	-	-
132	118	"	-	-
133	120	"	+	+
134	121	"	-	-
135	122	"	-	-
136	123	"	-	-
137	125	"	+	+
138	126	"	-	-

Número	No. SURESA	Caso SURESA	R E S U L T A D O	
			I. D.	CIEF.
139	10	143	-	-
140	11	"	+	+
141	19	"	+	+
142	30	"	-	+
143	38	"	-	-
144	45	"	-	-
145	56	"	-	-
146	59	"	-	-
147	64	"	-	-
148	68	"	-	-
149	74	"	-	-
150	84	"	-	-
151	90	"	-	-
152	93	"	-	-
153	97	"	-	-
154	108	"	-	-
155	111	"	-	-
156	113	"	-	-
157	124	"	-	-
158	126	"	-	-
159	129	"	-	-
160	138	"	-	-
161	139	"	-	-
162	140	"	-	-

Número	No. SURESA	Caso SURESA	R E S U L T A D O	
			I. D.	CIEF
163	144	143	-	-
164	148	"	+	+
165	2-C	112	-	-
166	4-C	"	-	-
167	11-C	"	-	-
168	16-C	"	-	-
169	17-C	"	-	-
170	20-C	"	-	-
171	21-C	"	-	-
172	26-C	"	-	-
173	27-C	"	-	-
174	28	"	-	-
175	29-C	"	-	-
176	31-C	"	-	-
177	33-C	"	-	-
178	35-C	"	-	-
179	39-C	"	-	-
180	43-C	"	-	-
181	47-C	"	+	+
182	49-C	"	-	-
183	50-A	"	+	+
184	51-C	"	-	+
185	54-A	"	-	-
186	59-CD	"	-	-

Número	No. SURESA	Caso SURESA	R E S U L T A D O	
			I. D.	CIEF
187	64-A	112	-	-
188	68	"	+	+
189	73-C	"	-	-
190	75-C	"	-	+
191	82-C	"	+	+
192	86-A	"	-	-
193	91-C	"	-	-
194	92-C	"	-	-
195	94-C	"	-	-
196	95-C	"	-	-
197	97-C	"	+	+
198	98-C	"	+	+
199	100-C	"	-	-
200	103-C	"	-	-
201	16-EC	"	+	+
202	105-C	"	-	-
203	106-C	"	-	-
204	107-C	"	+	+
205	109-C	"	+	+
206	110-C	"	+	+
207	112-C	"	-	+
208	113-C	"	+	+
209	116-A	"	+	+
210	121-C	"	+	+
211	122	"	-	-

Número	No. SURESA	Caso SURESA	R E S U L T A D O	
			I. D.	CIEF
212	123-C	112	-	-
213	124-C	"	+	+
214	125	"	-	+
215	128-A	"	+	+
216	129	"	-	+
217	130-C	"	-	-
218	131-C	"	-	-
219	134	"	-	+
220	139-C	"	+	+
221	140-C	"	-	-
222	141-C	"	-	-
223	143-C	"	+	+
224	147-C	"	+	+
225	156-C	"	+	+
226	158-A	"	-	-
227	160	"	-	-
228	173-A	"	-	-
229	175	"	+	+
230	177-C	"	-	-
231	3659-M	"	+	+
232	8954-N	"	-	+
233	8964-M	"	-	-
234	8981-M	"	-	-
235	17211	"	+	+

Número	No. SURESA	Caso SURESA	R E S U L T A D O	
			I. D.	CIEF
236	18294-N	112	+	+
237	18618-N	"	-	-
238	19934-N	"	-	+
239	Sia-I MCA	"	+	+
240	1	112-EC	-	+
241	4	" "	-	-
242	9	" "	+	+
243	11	" "	-	-
244	12	" "	-	-
245	14	" "	-	-
246	15	" "	-	-
247	19	" "	-	-
248	22	" "	-	-
249	29	" "	-	-
250	31	" "	-	+
251	32	" "	-	-
252	35	" "	-	-
253	36	" "	-	-
254	37	" "	-	-
255	38	" "	-	-
256	40	" "	-	-
257	46	" "	-	-
258	48	" "	-	-
259	52	" "	-	-

Número	No. SURESA	Caso SURESA	R E S U L T A D O	
			I. D.	CIEF
260	57	112-EG	-	+
261	58	" "	-	-
262	59	" "	-	-
263	61	" "	-	-
264	67	" "	-	-
265	68	" "	-	-
266	69	" "	-	+
267	74	" "	-	-
268	85	" "	-	-
269	87	" "	+	+
270	90	" "	-	-
271	95	" "	-	-
272	100	" "	-	-
273	107	" "	-	+
274	5	2432 EC-101	+	+
275	44	" "	-	-
276	102	" "	-	-
277	108	" "	-	-
278	111	" "	-	-
279	112	" "	-	-
280	124	" "	+	+
281	126	" "	-	-
282	129	" "	-	-
283	136	" "	+	+

Número	No. SURESA	Caso SURESA	R E S U L T A D O	
			I. D.	CIEF
284	137	2432 EC-101	+	+
285	139	" "	-	-
286	141	" "	-	-
287	142	" "	-	-
288	143	" "	-	-
289	145	" "	-	-
290	146	" "	+	+
291	163	" "	-	-
292	168	" "	+	+
293	171	" "	+	+
294	196	" "	-	-
295	198	" "	-	-
296	199	" "	+	+
297	227	" "	-	-
298	231	" "	+	+
299	251	" "	-	-
300	264	" "	-	-
301	22	2837 EC-167	-	+
302	24	" "	-	-
303	28	" "	-	-
304	30	" "	-	+
305	33	" "	-	-
306	60	" "	-	-

Número	No. SURESA	Caso SURESA	R E S U L T A D O	
			I. D.	CIEF
307	66	2837 EC-167	-	-
308	70	" "	-	-
309	72	" "	-	-
310	76	" "	+	+
311	85	" "	-	-
312	100	" "	-	-
313	115	" "	-	-
314	118	" "	-	-
315	119	" "	-	-
316	155	" "	-	-
317	158	" "	-	-
318	174	" "	-	-
319	175	" "	-	-
320	176	" "	-	+
321	181	" "	-	-
322	183	" "	-	-
323	190	" "	-	-
324	195	" "	+	+
325	201	" "	-	-
326	213	" "	-	-
327	216	" "	+	+
328	219	" "	+	+
329	225	" "	-	-
330	228	" "	-	-

Número	No. SURESA	Caso SURESA	R E S U L T A D O	
			I. D.	CIEF
331	236	2837 EC-167	+	+
332	245	" "	-	-
333	247	" "	-	-
334	250	" "	+	+
335	7	2837	+	+
336	8	"	-	+
337	12	"	+	+
338	15	"	-	-
339	22	"	-	-
340	27	"	-	-
341	44	"	-	-
342	46	"	+	+
343	49	"	-	-
344	50	"	-	-
345	52	"	+	+
346	63	"	-	+
347	68	"	-	-
348	75	"	+	+
349	79	"	-	-
350	100	"	-	-
351	106	"	+	+
352	112	"	-	-
353	124	"	-	-
354	153	"	-	-
355	6	2924 EC-135	-	-

Número	No. SURESA	Caso SURESA	R E S U L T A D O	
			I. D.	CIEF
356	7	2924 EC-135	+	+
357	8	" "	-	-
358	9	" "	-	-
359	10	" "	+	+
360	17	" "	-	-
361	22	" "	+	+
362	40	" "	+	+
363	44	" "	-	-
364	47	" "	-	-
365	58	" "	-	-
366	66	" "	-	-
367	67	" "	-	-
368	69	" "	+	+
369	75	" "	-	-
370	102	" "	-	-
371	104	" "	-	-
372	110	" "	-	-
373	120	" "	+	+
374	122	" "	-	-
375	128	" "	+	+
376	132	" "	-	-
377	135	" "	-	-
378	136	" "	-	-
379	163	" "	+	+
380	12	2926 EC-114	+	+

Número	No. SURESA	Caso SURESA	R E S U L T A D O	
			I. D.	CIEF
381	22	2926 EC-114	+	+
382	26	" "	-	-
383	29	" "	-	-
384	34	" "	-	+
385	39	" "	-	-
386	49	" "	-	-
387	58	" "	-	-
388	68	" "	-	-
389	69	" "	-	-
390	75	" "	+	+
391	77	" "	-	+
392	78	" "	-	-
393	81	" "	+	+
394	87	" "	-	-
395	88	" "	+	+
396	100	" "	+	+
397	101	" "	+	+
398	107	" "	+	+
299	117	" "	-	-
400	119	" "	+	+

En el cuadro No. 1, se presenta la comparación de los resultados obtenidos por las técnicas de inmunodifusión - - (ID) y contraimmunolectroforesis (CIEF) en la detección de anticuerpos contra el virus del Linfosarcoma bovino.

CUADRO No. 1

"Comparación de los resultados obtenidos por las técnicas de inmunodifusión (ID) y contraimmunolectroforesis - - (CIEF) en la detección de anticuerpos contra el virus del Linfosarcoma bovino".

	I. D.	CIEF	AMBOS	SENSIBILIDAD (%) COMPARATIVA	
Número de sueros positivos	108 (27%)	132(33%)	108(27%)	24	(6%)
Número de sueros negativos	292 (73%)	268(67%)	268(67%)	24	(6%)
TOTAL	400 (100%)	400(100%)	400(100%)	24	(6%)

VI.- D I S C U S I O N.

En la presente investigación la técnica de contraimmunolectroforesis descrita por Poli et al (26) fué modificada en la forma siguiente: se utilizó pH 8.6 en lugar de 9, Agar Noble Especial al 1% en sustitución de agarosa al .85% y se aplicó un voltaje de 200 durante 2 horas en vez. de 400 voltios durante 4 hrs. Lo anterior fué necesario -- ya que se corrieron muestras con la técnica original sin -- la obtención de lecturas claras, por lo que fué necesario hacer los cambios anotados, obteniéndose con esto resultados de fácil interpretación.

La contraimmunolectroforesis (CIEF) comparada con -- la técnica de inmunodifusión (ID) resultó ser una prueba -- de laboratorio sencilla con gran sensibilidad y especificidad que dá al clínico una información valiosa en la detección en el suero de anticuerpos contra el virus del Linfoma sarcoma bovino.

Por medio de la prueba de contraimmunolectroforesis se detectaron 132 sueros positivos (33%), mientras que por la técnica de inmunodifusión se detectaron 108 sueros positivos (27%), dando una diferencia del 6% de reactores positivos por contraimmunolectroforesis. La técnica de contra immunolectroforesis tendría aplicación práctica en animales destinados al pie de cría, por la importancia en detectar reactores positivos al Linfoma sarcoma bovino, y así evi-

tar introducir animales portadores a un hato libre (14, -- 24). Aunque hay otras pruebas más sensibles utilizadas en la detección de anticuerpos contra el virus del Linfosarcoma bovino como Inmunofluorescencia indirecta, Fijación de complemento, Ensayo inmunoenzimático (ELISA), etc., son -- pruebas muy costosas y que requieren de equipo sofisticado, así como de personal especializado para su realización -- (8, 14, 24, 31).

La prueba de CIEF requiere de menos tiempo para obtener el resultado final, siendo de 6-12 horas, mientras que para inmunodifusión es de 24-48 horas, la primera resultó ser más costosa por el tipo de reactivos y el equipo que se requiere para su realización.

VII.- CONCLUSIONES.

La técnica de contraimmunoelectroforesis (CIEF) es - más específica y sensible, aunque más costosa que la técnica de immunodifusión en la detección de anticuerpos contra el virus del Linfosarcoma bovino.

- 1.- Abramova, E.N., Kondrated, V.S., Sytinskii, I.A.: --
The Biochemistry of Leukosis in Cattle. The Vet. - -
Bull. 44:11 (1974).
- 2.- Acta de la reunión de la mesa de la Comisión del Cód-
igo Zoonosanitario Internacional de la O.I.E., Cap. -
3.1.1. Leucosis Bovina Enzoótica. París. 1979.
- 3.- Aluja, A.S. DE.: El Linfosarcoma Bovino. Rev. Fac. -
Med. Vet. Zoot. 1975.
- 4.- Aluja, A.S. DE., Uruchurtu, A.M.: El Linfosarcoma en
Bovinos. Boletín Col. Nac. de Med. Vet. Zoot. Méx. -
1967.
- 5.- Andrewes, S. Ch., Pereira, H.G. and Wildy, P.: Viru-
ses and Vertebrates. Fourth edition. Bailliere. Tin-
dall and Cassell. 1978.
- 6.- Blood, D.C. and Henderson, J.A.: Veterinary Medicine.
Third edition. 1976.
- 7.- Bruners, G.: Enfermedades Infecciosas de los Anima--
les Domésticos. 3a. ed. Editorial Prensa Médica Mexi-
cana. 1972.
- 8.- Burny, A., Bruck, C. and Chantrene, H.: Bovine Leuke-
mia Virus Molecular Biology and Epidemiology. Viral-
Oncology. Edited by George Klein. Raven Press, New -
York (1980).
- 9.- Coggins, L., Norcross, N.L.: Immunodiffusion Reac- -
tion in Equine Infectious Anemia. Amer. Assn. Vet. -
Lab. Diag., 449-462 (1979).

- 10.- Crowle, A.J.: Immunodiffusion. Second edition. Editorial Academic Press. New York., 361-364 (1973).
- 11.- Cunningham, H. Ch.: Virología Práctica. 3a. ed. Editorial Acriba. Zaragoza, España. 1976.
- 12.- Diccionario Terminológico de Ciencias Médicas. 11a.-ed. Editorial Salvat. 1977.
- 13.- Diglio, C.A., and Ferrer, J.E.: Induction of syncytia by the bovine C-type leukemia virus. Cancer Res., 36: 1056-1067 (1976).
- 14.- Gauthier, T., Guillemain, B. and Astier, T.: Sensitivity of an Immunodiffusion test for the Detection -- and Quantitation of Bovine Leukaemia Virus Induce -- Antibodies. Fourth International Symposium on Bovine Leukosis. Brussels-Luxembourg, 1980.
- 15.- Hudson, L., Frank, C. Ch.: Immunología Práctica. 3a. ed. Editorial JIMS, 1979.
- 16.- Jaramillo, G.H.: El Linfosarcoma de Bovinos en la -- Cuenca Lechera del Valle de México. Tesis de Lic. -- Fac. Med. Vet. Zoot. U.N.A.M., 1975.
- 17.- Jubb, K.V. and Kennedy, P.C.: Patología de los Animales Domésticos. 2a. ed., I, II. Editorial UNOME, -- 1980.

- 18.- Manual Merck de Veterinaria. 2a. ed. Editorial Merck and Co., Inc. 1973.
- 19.- Mar, R.: Memorias I Simposium Internacional de Laboratorios de Diagnóstico. Guanajuato, Gto. Méx., 1977.
- 20.- Matthaeus, W., Straub, O.C.: Detection of Precipitating Antibodies and Identification of Bovine Leukemia Virus Antigens by Counter-current-immunoelectrophoresis. The Vet. Bull. 50:10 (1980).
- 21.- Medway, W.D., Prier, J.E. and Wilkinson, J.S.: Patología Clínica Veterinaria. 3a. ed. Editorial UTEHA. - 1973.
- 22.- Miller, J.M., and Olson, C.: Precipitating antibody to an internal antigen of the C-type virus associated with bovine lymphosarcoma. J. Natl. Cancer Inst. 49: 1459-1462 (1972).
- 23.- Muhammed, S.I., Tadayon, R.A. and Cheema, A. H.: Detection of antibodies to Mycobacterium Johnei by counterimmunoelectrophoresis. The Veterinary Records. 102: 401-403 (1978).
- 24.- Onuma, M.: Bovine Leucosis, Epidemiology and Control of the Disease. Estudio recapitulativo, 1983. (trabajo no publicado).

- 25.- Padilla, N.L.: Estudio de las Propiedades Bioquímicas e Inmunológicas de las Proteínas externas del Reovirus SA-11 (Simian-11). Tesis de Lic. Inst. Inv. Biomédicas. U.N.A.M. 1979.
- 26.- Poli, B.C., Pozza, O. and Ponti, W.: Application of counter immunoelectrophoresis for a rapid serodiagnosis of Enzootic Bovine Leukosis. Br. Vet. J. 136:3 (1980).
- 27.- Robbins, M.D., Stanley, L. Pathology. 3a. ed., Vol. I Company Philadelphia. London (1970).
- 28.- Rosenberg, G.: "die Kraukheiten Des Rindes". Las Enfermedades del Bovino. 1a. ed. Paul Parey Verlag. Berlin Und Hamburg (1970).
- 29.- Rowson, K.E., Rees, T.A. and Mahy, J.S.: Dictionary of Virology. Blackwell Scientific Publications. Oxford London. Edinburgh Boston Melbourne. (1980).
- 30.- Ruiz, G.A.: Leucosis Linfática Enzootica del Bovino Adulto, Estudio de un Hato Infectado. Tesis de Lic. Fac. Med. Vet. Zoot. U.N.A.M., 1973.
- 31.- Sánchez, V.J., Cambra, A.M.: Técnicas Inmunoenzimáticas en Patología Animal y Vegetal. Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias. Madrid-España. (1981).

- 32.- Sashib, M., Sukanta, K.D.: Veterinary Virology. Lea-
y Febiger. Philadelphia (1980).
- 33.- Smith, J.: Patología Veterinaria. 2a. ed. Editorial -
Hispanoamericana. México., 1962.
- 34.- Suzán, M., Aguilar, R.: Estudio ~~Sero~~epizootiológico-
de Siete Enfermedades Virales del Ganado Bovino en --
México. XIV Congreso Nacional de Microbiología. A.M.-
M., Chihuahua, Chih. Méx., Abril, 1983.
- 35.- Tizard, I.R.: Immunología Veterinaria. 2a. ed. Edito-
rial Interamericana. (1979).
- 36.- Uruchurtu, G.H.: Incidencia de Linfosarcoma en Bovi--
nos en el Distrito Federal. Tesis de Lic. Fac. Med. -
Vet. Zoot. U.N.A.M., 1967.
- 37.- Vilchis, M.C.: Determinación de Anticuerpos contra el
Virus de la Leucosis Bovina por la técnica de Immuno-
difusión. Tesis de Lic. Fac. Med. Vet. Zoot. U.N.A.M.,
1979.
- 38.- Welsh, R.M., Cooper, N.R., Jensen, F.C. and Oldstone, -
M. B.: Human serum lyses RNA tumor viruses. Nature, --
257:612-614 (1975).

