

13  
2a3



**UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTONOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLAN**



**EMPLEO DE LA PRUEBA DE INHIBICION DE LA  
HEMOLISIS PARA EL DIAGNOSTICO DE  
LINFADENITIS CASEOSA EN REBAÑOS CAPRINOS  
DE LA COSTA CHICA DE GUERRERO, MEXICO**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
**MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**  
P R E S E N T A N  
**PABLO BUENO SALGADO**  
**SILVIA GINES CARRERA**

ASESOR DE TESIS: M.V.Z. SUSANA E. GARCIA VAZQUEZ  
COASESOR DE TESIS: M.V.Z. SILVIANO TREJO NUNEZ

CUAUTITLAN IZCALLI, ESTADO DE MEXICO

1993

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



## **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 está 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.

## INDICE

	Pág.
RESUMEN.....	3
INTRODUCCION.....	4
OBJETIVOS.....	14
MATERIAL Y METODO.....	15
RESULTADOS Y DISCUSION.....	27
CONCLUSIONES.....	47
LITERATURA CITADA.....	48

## RESUMEN

El presente trabajo inicia con la recolección de los datos clínicos de tres rebaños caprinos de la región de la Costa Chica del estado de Guerrero, México, donde se obtuvieron 152 muestras de suero sanguíneo, con las cuales se desarrolló la Prueba de Inhibición de la Hemólisis (modificada, Burrell, 1980).

Como resultado de la prueba se obtuvo que el 95.39 % de las muestras dieron títulos positivos, siendo el más frecuente en la dilución 1:2 con un 23.03 %. Se encontró una correlación positiva entre el número de abultamientos en ganglios linfáticos y el título de anticuerpos, observando que a medida que aumentó ó disminuyó el número de hinchazones en los animales, lo hizo también el título de anticuerpos. Además, se encontró una correlación negativa entre el peso y el título de anticuerpos, deduciéndose que los animales menos pesados presentaron un mayor título de anticuerpos, y viceversa. También se encontró una correlación negativa entre el peso y el número de nodulaciones, que indica que los animales menos pesados tenían mayor número de nodulaciones y viceversa.

## INTRODUCCION

La linfadenitis caseosa, también llamada pseudotuberculosis, es un padecimiento crónico que se caracteriza por provocar lesiones purulentas y caseosas (abscesos) en ganglios linfáticos principalmente. Es observada frecuentemente en animales adultos que llegan al rastro (García y Ciprian, 1986).

Es una enfermedad infecciosa causada por un bacilo ó cocobacilo grampositivo denominado *Corynebacterium pseudotuberculosis* (*C. ovis*), el cual es una bacteria intracelular facultativa. El padecimiento reviste carácter endémico en regiones con grandes manadas de ovejas y cabras, y su principal impacto económico se debe al decomiso de los animales en el matadero (Melvin y col.,1988).

Entre las especies animales más susceptibles, se encuentran en orden de importancia los ovinos, caprinos, equinos, bovinos, conejos y ciervos (Merchant y Parker, 1970). En 1989, Radwan y col., reportan un brote de infección por *C. pseudotuberculosis* serotipo I (*C. ovis*) en 2500 camellos que compartían la pastura con ovinos y caprinos en Sudarabia.

En algunos rebaños caprinos la enfermedad se ha establecido como causa importante de consumo. La principal forma de infección es a través de heridas causadas por la trasquila, descole, castración, etc. y, la fuente de infección está constituida por las secreciones procedentes de los linfonódulos rotos. La contaminación de suelo, pesebres y camas puede proporcionar la persistencia de la bacteria en el medio durante largos periodos (Blood y Henderson,1988 , García y Ciprian,1986).

En cabras, muchas heridas pequeñas de cabeza y cuello pueden infectarse, aunque también, la enfermedad puede desarrollarse por penetración de la mucosa oral después de la ingestión de pus (Melvin y col., 1988).

Existen reportes que indican el hallazgo de esta bacteria en las vías respiratorias de animales sanos, lo que indica la posibilidad de infecciones endógenas en animales debilitados (Ocadiz, 1987).

Schreuder y col. (1990), reportan la presencia del microorganismo a partir de muestras de leche procedente de media ubre de donde además mostraba un absceso en el linfonódulo supramamario correspondiente, del cual también se aisló la bacteria, no así de la leche de la otra mitad aparentemente sana de una cabra.

En 1986, Holstad, demuestra mediante las pruebas de aglutinación bacteriana e inhibición de la hemólisis, la presencia de anticuerpos en un rebaño caprino aparentemente sano que pastaba en las mismas praderas donde lo hacía otro rebaño clínicamente afectado. Lo anterior supone la presencia de la bacteria contaminando los suelos.

La enfermedad se encuentra ampliamente distribuida en todas las áreas de crianza ovina y/o caprina. (García y Ciprian, 1986).

En 1990, Meldrum, reporta el primer brote de la enfermedad en Inglaterra, diagnosticándola mediante aislamiento del microorganismo a partir de abscesos en piel de cabras importadas a dicho país.

En un estudio, Brown y col. (1989), encontraron que en un rebaño de Brasil, el 57.9 % de los animales (44 de 76 cabras) presentaban títulos de anticuerpos contra la exotoxina de *C. pseudotuberculosis*.

En 1988, Nuttall, reporta en Nueva Zelanda una prevalencia de la enfermedad del 7.14% en ovejas, 0.64% en corderos y del 0.2% en cabras.

En 1988, Amerongen, reporta por primera vez la enfermedad en dos rebaños de Costa Rica.

La patogenicidad del microorganismo está en relación con la producción de una exotoxina termolábil, un factor piogénico termoestable leucotóxico y un lípido de superficie en forma de capa que lo cubre evitando su destrucción antes y después de ser fagocitado y que es el ácido corinemicólico (Sutherland, 1989). La barrera celular lipídica y la producción de la toxina, están asociados con el mantenimiento del curso crónico de la enfermedad (Melvin y col., 1988).

La toxina es letal para el cuy, conejo y oveja, inyectada por vía intravenosa, y produce anemia hemolítica e ictericia. Es una glicoproteína conocida como Fosfolipasa D, la cual aumenta la permeabilidad capilar que favorece la distribución del microorganismo, por destrucción de la membrana celular de células endoteliales (Sutherland, 1989).

Cuando solamente están presentes los abscesos superficiales, la infección generalmente es bien tolerada; sin embargo, el microorganismo puede penetrar en los conductos linfáticos aferentes y causar abscesos viscerales. Estos se desarrollan más a menudo en los linfonódulos mediastínicos y bronquiales. Frecuentemente ocurren abscesos pulmonares múltiples y las cabras corren el riesgo de contraer bronconeumía extensa. No es raro que la infección ocurra en los ganglios linfáticos supramamarios y testiculares, mientras que en los órganos como el hígado, el bazo y los riñones son afectados con menor frecuencia. La afección visceral extensa da lugar a la enfermedad crónica, que causa el "síndrome de la oveja flaca" y su asociado fracaso reproductivo (Melvin y col., 1988).

Kuria y Ngatia (1990), en un estudio realizado en Kenia, encontraron que en ovinos y caprinos la abscedación es más común en linfonódulos preescapulares (68.25 %), seguido de los precapulares (14.28 %) y que algunos abscesos son localizados subcutáneamente sin implicar los linfonódulos superficiales. También encontraron que *C. pseudotuberculosis* estaba presente en el 79.36 % de los abscesos y que en el 11.1 % de los mismos se localizaban además de éste, otros microorganismos tales como *Bacillus*, estreptococos, estafilococos, coliformes, pseudomonas; mientras que el 9.52 % no mostró bacteria alguna.

Menzies y Muckle (1989), encuentran una distribución de abscesos superficiales en cabras del 66.9 % localizados en la región craneal, 18.5 % en la región media y 14.6 % en la región caudal; mientras que en ovinos la encuentran del 81.9 % en la craneal, 18.1 % en la media y 0.0 % en la caudal.

En un estudio realizado en Estados Unidos, Ashfaq y Campbell (1979) aseveran que de 4013 cabras, el 8.07 % mostraban abscesos superficiales en diferentes sitios del cuerpo; y que de estos, el 75 % se localizaban en cabeza y cuello, el 15 % en la región preescapular y el 10 % en la región de los flancos y la ubre. Además, encuentran una correlación directa entre la edad de los animales y la prevalencia de la enfermedad, demostrando que la mayor prevalencia se ubica alrededor de los 4 años de edad.

Por otra parte, Holstad (1986), encuentra que a medida que aumenta la edad en los animales, lo hace también el porcentaje de animales seropositivos, observando que alrededor de los 6 años de edad, el 100 % de los animales examinados resultaron positivos con la prueba de



inhibición de la hemólisis, mientras que alrededor de 1 año sólo el 56% resultaron positivos.

Gezon y col. (1991), demuestran que el microorganismo también puede localizarse formando abscesos junto con *Actinomyces pyogenes* y *Staphylococcus sp* en regiones poco comunes como la esternal, en donde además las lesiones desarrollan Osteomielitis.

Erganis y col. (1990), en un examen bacteriológico de linfonódulos purulentos de borregos, encuentran además del agente causal de la linfadenitis caseosa, bacterias tales como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sp.*, *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*.

Por su parte, Holstad (1988), en otro estudio demuestra que la infección experimental *in vivo*, en cabras tratadas con antibióticos, trajo consigo la abscedación en órganos internos.

El diagnóstico de la enfermedad puede hacerse clínicamente en base a las lesiones ó mediante el aislamiento de la bacteria (García y Ciprian, 1986). Es de importante valor la presencia de pus verdoso caseoso contenido en las abscedaciones (Blood y Henderson, 1988).

En el laboratorio, la enfermedad puede diagnosticarse mediante métodos como: cultivo a partir de linfonódulos abscedados, inoculación de la toxina a conejos (prueba de Dermonecrosis), pruebas de aglutinación, prueba de precipitación en gel, inmunodifusión simple ó radial y fijación de complemento. Sin embargo, ninguno de los métodos serológicos probados han sido ampliamente usados, algunos por dar falsos positivos y otros por ser caros (García, comunicación personal).

Lindsay y Lloyd (1991), aislaron la bacteria a partir del 100 % de las hinchazones de un rebaño caprino.

Algunas pruebas serológicas empleadas para el diagnóstico se basan

en la detección de anticuerpos contra la exotoxina de *C. pseudotuberculosis* e incluyen: inhibición de la antihemolisina (AHI), prueba de protección al ratón, hemaglutinación indirecta (IHA), prueba de inhibición de la hemólisis (HIT), e inmunodifusión (Sutherland y col., 1987).

El estudio de las actividades hemolíticas y hemaglutinantes de la exotoxina de *C. pseudotuberculosis* tiene delineado el desarrollo de cuatro tipos de pruebas de diagnóstico, que son: prueba de inhibición de la hemólisis, prueba de inhibición de la hemaglutinación directa, prueba de inhibición de la aglutinación directa con eritrocitos lisados y prueba de inhibición de la hemólisis en gel (Burrell, 1980).

Holstad (1986), encuentra mediante dos pruebas serológicas (Aglutinación Bacteriana e Inhibición de la Hemólisis) una correlación directa entre la edad y la presencia de anticuerpos (Ac) en cabras, no obteniendo reacción positiva en cabritos menores de 4 meses de edad y logrando reacciones positivas hasta del 98 % en adultos mayores de 7 años de edad.

Johnson y col. (1988), han desarrollado y comparado una prueba de ELISA junto con la prueba sinérgica de inhibición de la hemólisis, para registrar la respuesta inmune de anticuerpos contra la exotoxina de *C. pseudotuberculosis* en cabras.

Menzies y Muckle (1989), usan la prueba de Microaglutinación directa en rebaños afectados por la enfermedad, obteniendo una pobre sensibilidad de la prueba para cabras (52.3 %) y buena para ovinos (89.7 %); una buena especificidad para caprinos (64.9 %) y pobre para ovinos (21.7 %); una prevalencia de la enfermedad de 13.5 % para cabras y de 8.5 % para ovinos; un valor de predicción a la prueba positiva muy

pobre para ambas especies (18.9 % para cabras y 9.6 % para ovinos); pero un buen valor de predicción a la prueba negativa para caprinos (89.7 %) y excelente para ovinos (95.8 %). Concluyen que la prueba de Microaglutinación es rápida y fácil de realizar, sin embargo, no la recomiendan.

Langenegger y col. (1987), obtienen un alérgeno designado "Linfadenin" para el diagnóstico de la enfermedad en cabras, el cual luego de ser probado en cuyes, lo inyectaron a cabras obteniendo en el sitio de inyección un incremento promedio de 6.04 a 2.87 milímetros en animales clínicamente enfermos y de 0.57 a 0.4 milímetros en los sanos.

Oliveira y col. (1992), emplean la prueba de ELISA para medir los niveles de anticuerpos contra la exotoxina, y sus resultados indican que, tanto ésta como la "lifadinina", son los mejores antígenos para detectar inmunoglobulinas específicas contra *C. pseudotuberculosis*.

En ovinos, Zhao y col. (1987), indican que la prueba de ELISA es un método preciso para el diagnóstico de la infección por *C. pseudotuberculosis*.

En 1987, Brown y col., utilizan la prueba sinérgica de inhibición de la hemólisis obteniendo una proporción de reactores serológicos tan alta como la proporción de animales con abscesos (caprinos y ovinos), lo cual es sugestivo para usar la prueba en la detección de animales infectados subclínicamente.

Holstad (1986), compara las pruebas de aglutinación bacteriana (BAT) y la inhibición de la hemólisis (HIT) demostrando la facilidad de su desarrollo y considerándolas apropiadas para el estudio de la infección por *C. ovis* en cabras.

Langenegger y col. (1991), estudian la prevalencia de la enfermedad

en rebaños de Río de Janeiro, logrando detectar mediante la prueba sinérgica de HI, anticuerpos en el 19.2 % de los animales examinados, títulos que variaron de 1:2 a 1:1256. Usaron también la prueba de Linfadenización obteniendo reacciones positivas en el 22.1 % de los animales. Concluyen que esta última prueba resulta más sensible, específica y un práctico método en el campo.

Brown y col. (1986), mediante la prueba sinérgica de inhibición de la hemólisis (SHI), encuentran en varios muestreos una seropositividad del 98 % en cabras y del 96 % en ovinos. Concluyen que la prueba es capaz de detectar animales afectados clínicamente como subclínicamente, pero que es escasa en especificidad ó que sus títulos son un reflejo de infecciones recientes ó anteriores.

Laak y col. (1991), reportan el uso de la prueba de ELISA y la proponen como apropiada para los programas de erradicación de la enfermedad en caprinos y ovinos.

Kuria y Holstad (1989), encuentran en rebaños de Noruega, examinados mediante la prueba de inhibición de la hemólisis, una prevalencia de animales seropositivos que varió del 8 % al 85 %, aún cuando los exámenes clínicos no fueron realizados en el estudio.

Pérez (1993), desarrolla la prueba de inhibición de la hemólisis en 118 sueros ovinos obtenidos a partir de animales sacrificados en rastro, logrando los más altos títulos en las diluciones 1:8192 y 1:32 (35.6 % y 15.25 % de las muestras, respectivamente) y concluyendo que la prueba es sensible, económica y de fácil realización, por lo que la considera promisoría para el diagnóstico de la enfermedad.

Piran (1990), desarrolla una prueba llamada "Dot Blot" para el serodiagnóstico de linfadenitis caseosa, concluyendo que dicha prueba

resulta rápida, barata y con alta especificidad y sensibilidad en la detección de animales afectados, lo cual es corroborado mediante la prueba sinérgica de inhibición de la hemólisis.

Todos los intentos que se han hecho para producir una vacuna contra la linfadenitis caseosa han dado pobres resultados. Mediante la vacunación es posible disminuir el número de abscesos en los animales, ya que con ella disminuyen los efectos de la toxina bacteriana, pero no es posible limitar mucho la propagación sistémica de la bacteria, ni la formación de abscesos. La infección cutánea no se ve impedida (Blood y Henderson, 1988).

Holstad (1989), ha probado una vacuna combinada (toxoides crudos filtrados más bacterias enteras) contra la infección natural en varios rebaños caprinos de Noruega, demostrando la respuesta de anticuerpos mediante la prueba de inhibición de la hemólisis. No obstante de no ser lo suficientemente eficaz dicha vacuna, la recomienda como la única medida protectora contra la Pseudotuberculosis en los rebaños caprinos de este país.

Ribeiro y col. (1988), evalúan una vacuna formalizada y adicionada con fosfato de aluminio como adyuvante, obteniendo una protección estimada del 77 % contra la exposición de la enfermedad en cabras.

Existen antibióticos efectivos contra *C. ovis* "in vitro", sin embargo, las lesiones que se producen en el animal son encapsuladas y esto hace sumamente difícil que dichos antibióticos atraviesen esas barreras y destruyan el agente causal, por lo que este tipo de tratamiento no es recomendable (García y Ciprián, 1986).

*In vitro*, (por pruebas de antibiograma), Favier y col. (1990), encuentran sensibles a ampicilina, cefalosporina, gentamicina,

tetraciclina, espiromicina, eritromicina y lincomicina, las 58 cepas de *C. pseudotuberculosis* por ellos estudiadas.

Dravecky y col.(1986), sugieren como control de la enfermedad; el aislamiento individual de los animales afectados, el tratamiento quirúrgico, la administración de antibióticos parenteralmente, la eliminación segura del exudado purulento, la prevención de la ruptura espontánea de los abscesos, así como un programa de vacunación en algunos países.

## OBJETIVOS

1.- Realizar un sondeo epidemiológico de la Linfadenitis Caseosa en rebaños caprinos de la costa chica del estado de Guerrero, México, ubicados en las comunidades de Arroyo de Barranca Honda y Cumbre de Barranca Honda, municipio de Ometepec, y, aportar una investigación más, en beneficio de la caprinocultura en México.

2.- Utilizar la prueba de inhibición de la hemólisis para detectar los títulos de anticuerpos contra la toxina de *Corynebacterium pseudotuberculosis*, de las muestras serológicas obtenidas.

3.- Montar la prueba de inhibición de la hemólisis, como una técnica más de diagnóstico en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM.

## MATERIAL Y METODO

### I. MATERIAL BIOLÓGICO:

a) REBAÑOS CAPRINOS.- Luego de efectuar varios recorridos por la región, se procedió a realizar un sondeo epidemiológico de la enfermedad en cuestión y a seleccionar los rebaños. Cabe aclarar que se trabajó en coordinación con el FONDO REGIONAL DE SOLIDARIDAD DE LOS PUEBLOS AMUZGO-MIXTECO-TLAPANECO Y NAHUATL DEL ESTADO DE GUERRERO, el cual, en ese entonces tenía en ejecución un proyecto denominado UNIDADES CAPRINAS, entre otros. Por la anterior razón, se tuvo acceso a más de 17 rebaños localizados en los municipios de Ometepec, Xochistlahuaca, Tlacoachistlahuaca, Azoyú, Igualapa y Cuajinicuilapa. Por la facilidad del acceso y pensando en la posibilidad de repetir el muestreo, para el presente estudio se seleccionaron tres rebaños caprinos del municipio de Ometepec: el primero (rebaño A) ubicado en la comunidad de Arroyo de Barranca Honda, propiedad de un grupo de caprinocultores y un tamaño de 320 cabezas; el segundo (rebaño B) ubicado en la comunidad de Cumbre de Barranca Honda, propiedad del Sr. Mario Rufino Hernández y un tamaño de 30 cabezas; y el tercero (rebaño C) ubicado en la comunidad de Cumbre de Barranca Honda, propiedad del Sr. Lorenzo Santiago de las Nieves y un tamaño de 80 cabezas. De estos rebaños se eligieron al azar 152 animales de raza criolla, ambos sexos (23 machos y 129 hembras), mayores de 4 meses de edad (de 4 a 60 meses) y sin considerar la presencia de abultamientos superficiales. En el cuadro No. 1



aparecen mayores detalles respecto a los animales muestreados, aclarando que los primeros 100 pertenecieron al rebaño A, los 19 siguientes al B y los 33 últimos al rebaño C.

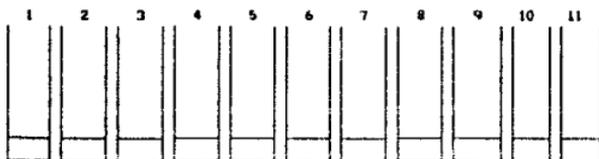
b) MUESTRAS DE SUERO SANGUINEO.- Una vez seleccionados, identificados y tomadas las historias clínicas de los animales, de cada uno de ellos se obtuvieron aproximadamente 10 ml de sangre venosa mediante punción con aguja y jeringa estériles. Luego del reposo y de haberse separado el coágulo sanguíneo del suero, éste último se introdujo a un vial igualmente estéril. Hecho lo anterior, los viales fueron colocados en el interior de termos en refrigeración para su traslado y pronta congelación.

c) ERITROCITOS DE CABRA.- De un caprino cualquiera, propiedad del módulo de posgrado de la FES-C, se obtuvieron 5 ml de sangre venosa con EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) como anticoagulante, y se introdujeron a un tubo de ensaye estéril. Una vez en el laboratorio de Microbiología de la FES-C, la muestra se centrifugó a 2500 r.p.m. durante 10 minutos, luego se desechó el sobrenadante claro (plasma) con una pipeta estéril y con otra se repuso de PBS (solución bufferada de fosfatos) el equivalente en volumen. Esta misma operación se repitió por tres veces hasta lavar los hematíes. En seguida, con una pipeta estéril se tomaron 1.0 ml del centrifugado (eritrocitos) y se diluyeron en 199.0 ml de PBS (pH=7.2) que contenía un matraz, agitándose suavemente para homogenizar. De este modo se obtuvo una concentración del 0.5 % de glóbulos rojos de cabra.

d) TOXINA DE *Corynebacterium pseudotuberculosis*.- Fué obtenida a partir de una cepa (caso clínico) proporcionada en el laboratorio de Microbiología de la FES-C. El cultivo puro de *C. pseudotuberculosis* se inoculó en caldo BHI (infusión cerebro-corazón) con suero y se incubó a 37 C durante 72 hrs. Luego, la suspensión fué centrifugada a 2500 r.p.m. durante 30 minutos. El líquido sobrenadante fué sometido a filtración a través de un filtro millipore (membrana con poro de 0.22  $\mu$ m) y constituyó el extracto crudo de la toxina. A continuación, se realizó la titulación de la toxina, mediante la siguiente técnica:

#### PRUEBA DE HEMOLISIS

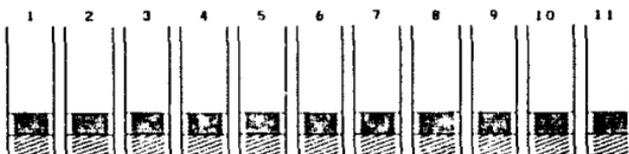
1) En una serie de 11 tubos de ensaye, se colocó en forma constante 0.25 ml de PBS (pH=7.2).



2) Al primer tubo se añadió 0.25 ml del extracto crudo de la toxina. Se homogenizó y se pasó 0.25 ml de esa mezcla al siguiente tubo, y así sucesivamente hasta el tubo No. 11 (diluciones dobles).



3) Se añadió 0.25 ml de eritrocitos de cabra al 0.5 % en cada tubo.

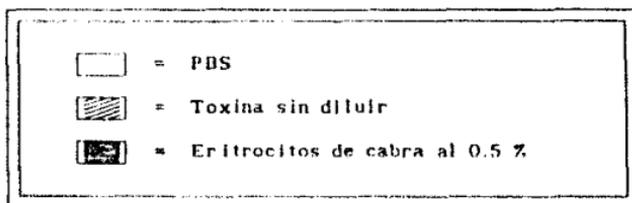


4) Se incubó a 37 C, durante 1 hr.

5) Lectura de resultados:

Hemólisis hasta el 6o. tubo.

Sedimentación a partir del 7o. tubo.



El resultado indicó que en el tubo No. 6 fué la última dilución en la que presentó actividad hemolítica la toxina, y aquí se encontró una unidad hemolítica. Para el trabajo realizado se utilizaron 4 unidades hemolíticas, para lo cuál se diluyó la

toxina 1/16. En este caso, dado que se prepararon 160 ml de toxina titulada, a 150 ml de PBS se le agregaron 10 ml del extracto crudo de la toxina (toxina sin diluir).

(Pérez, 1993).

## 2. MATERIAL NO BIOLÓGICO:

- a) DE VIDRIERIA.-
- Viales
  - Tubos de ensaye
  - Vasos de precipitado
  - Matraces
  - Tubos con tapón de rosca
  - Pipetas
  - Microplacas
  - Micropipetas
  - Microdilutores
  - Jeringas
  - Filtro millipore

- b) EQUIPO.-
- Autoclave
  - Centrifuga
  - Potenciómetro
  - Báscula analítica
  - Estufa bacteriológica
  - Refrigerador
  - Congelador
  - Termos portátiles

c) REACTIVOS Y SOLUCIONES.- La forma de preparar la Solución Bufferada de Fosfatos (PBS) fué la siguiente:

1er. paso.- Soluciones concentradas.

$\text{Na}_2\text{HPO}_4$ (fosfato de sodio)	0.15 M	21.3 g/l de agua destilada
$\text{KH}_2\text{PO}_4$ (fosfato de potasio)	0.15 M	20.4 g/l de agua destilada
Na Cl (cloruro de sodio)	0.15 M	8.8 g/l de agua destilada

2o. paso.- Obtención de PBS con pH=7.2.

$\text{Na}_2\text{HPO}_4$	76.0 ml
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	24.0 ml
Na Cl	100.0 ml

(Morilla, 1986).

En el presente caso, dado que se requerían aproximadamente 2 litros de PBS, a 2 litros de agua destilada se le agregaron 16.188 g de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 4.896 g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  y 8.800 g de Na Cl, agitándose hasta disolver los reactivos. Luego, mediante el uso de un potenciómetro se verificó el pH y finalmente la solución fué sometida a esterilización.

### 3. METODO:

PRUEBA DE INHIBICION DE LA HEMOLISIS (Burrell, 1980).

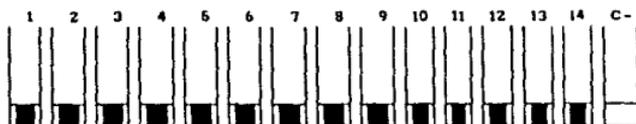
#### Técnica Modificada:

1) Se colocó una gota (0.03 ml aproximadamente) de PBS (pH=7.2) en forma constante en una serie de 15 orificios de la microplaca.

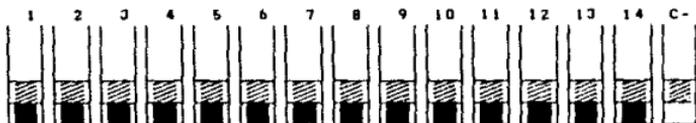


2) Se añadió una gota de suero a titular en el primer orificio y se homogenizó. Enseguida se tomó una gota de este suero y se pasó al

siguiente orificio y así sucesivamente hasta el orificio número 14.



- 3) Se añadió una gota de toxina bacteriana titulada (con 4 unidades hemolíticas) en forma constante a los 15 orificios.



- 4) Se incubó a temperatura ambiente durante 2 horas.

- 5) Se agregó una gota de eritrocitos de cabra al 0.5 % a todos los orificios.



- 6) Se incubó en refrigeración (2 a 4 C), durante 72 horas.

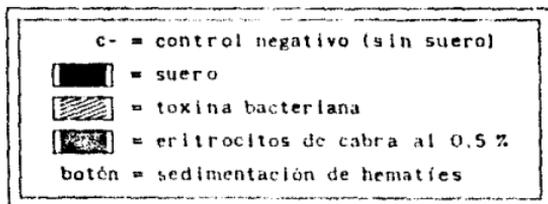
- 7) Se tomó la lectura.



botón



hemólisis



Cuadro No. 1. Datos generales de los animales muestreados.

<u>Núm:</u> <u>CASO</u>	<u>SEXO</u>	<u>EDAD</u> <u>(meses)</u>	<u>PESO</u> <u>(Kg)</u>	<u>ESTADO</u> <u>NUTRIC.</u>	<u>O B S E R V A C I O N E S</u> <u>(Sistema Linfático)</u>
001	H	8	30	B	Bien, aparentemente
002	H	8	25	B	PEs abultados ligeramen.
003	H	6	15	B	PEs y PCs abultados lig.
004	H	48	45	R	PC der. abultado
005	H	48	40	D	PEs abultados
006	H	48	50	D	PE der. deb., PE izq. ab.
007	M	7	20	R	PEs abultados
008	H	24	40	B	PE der. y PC izq. abult.
009	H	12	30	B	PCs abultados
010	H	36	40	R	PEs abultados
011	M	9	15	B	PC der. absced; PE izq. abul.
012	M	8	15	R	PEs abultados
013	H	24	35	B	PE der. y PC izq. abult.
014	H	6	15	D	PE izq. abultado
015	H	24	35	B	PE der. abultado
016	H	36	30	MD	Bien, aparentemente
017	H	24	25	R	PC izq. abult. ligeramen.
018	H	24	20	D	PEs y PC der. abultados
019	H	6	10	D	PC izq. debridado
020	H	24	35	B	PE der. debridado
021	H	24	45	B	Bien, aparentemente
022	H	24	40	B	PC izq. abscedado
023	M	24	55	B	Bien, aparentemente
024	M	36	60	B	PC der. abultado
025	H	36	30	D	PEs abultados
026	H	48	40	R	PC der. abultado
027	H	8	25	B	PC izq. abultado
028	H	24	40	B	Bien, aparentemente
029	H	24	40	R	Bien, aparentemente
030	H	12	35	B	Bien, aparentemente
031	H	36	40	R	Bien, aparentemente

032	M	36	50	MB	Bien, aparentemente
033	M	24	40	MB	PE der. abultado, SP debridado
034	H	8	20	B	PE der. abultado
035	M	12	40	B	Bien, aparentemente
036	H	8	20	R	PEs y PC izq. abultados
037	H	48	40	B	PC izq. abultado
038	H	48	40	B	Bien, aparentemente
039	H	12	30	R	PE der. abultado
040	H	36	35	B	PC der. abultado
041	H	8	20	B	Todos abultados ligeramente
042	M	12	20	R	PE der. abultado ligeramente
043	H	24	30	D	Bien, aparentemente
044	H	12	25	B	Bien, aparentemente
045	H	18	30	B	Todos abultados ligeramente
046	H	18	30	R	Todos abultados ligeramente
047	H	48	40	B	PC der. abultado
048	H	24	40	MB	Bien, aparentemente
049	H	48	35	B	Bien, aparentemente
050	H	24	35	B	PE izq. abultado
051	H	8	20	B	PE izq. y PC izq. abultados
052	H	12	30	B	PEs, PCs y RMs abultados
053	H	48	35	R	PEs, PCs, RMs y SMs abultados
054	H	36	30	R	PEs y PCs abultados
055	H	48	35	R	PCs y RMs abultados
056	H	24	35	D	PE izq. abult., PC izq. absce.
057	H	24	40	B	RMs abultados
058	H	12	20	D	PC der. abultado
059	H	8	20	B	PC izq. abscedado
060	M	10	30	B	PC der. abultado
061	H	36	40	D	PE der. y PC der. abultados
062	H	48	35	B	Bien, aparentemente
063	M	8	20	B	PE izq. abultado
064	H	36	35	D	PCs abultados ligeramente
065	H	10	20	B	PCs abultados ligeramente
066	H	24	30	B	PEs, PCs y RMs abult. liger.
067	H	24	30	D	PEs y PC abultados



068	H	24	25	D	PEs y PCs abultados
069	H	36	30	R	PEs y PC der. abult., SP izq. debrid.
070	H	24	40	B	PE der. abultado
071	H	24	30	R	PEs y PCs abultados
072	H	12	30	B	PE der. abscedado
073	H	10	20	B	PE der. y PCs abultados
074	H	36	30	R	PE izq. y PCs abultados
075	H	24	30	B	PE izq. abscedado
076	H	12	25	R	PEs y PCs abultados
077	M	10	20	B	PEs y PC izq. abultados
078	H	48	40	B	PEs, PCs y RMs abultados
079	H	8	15	R	PEs abultados
080	H	10	20	B	PEs abultados
081	H	8	15	B	PEs y PCs abultados
082	H	10	15	B	PCs abultados, PE der. abscedado
083	H	10	20	R	PEs y PCs abultados
084	M	10	15	R	PEs abultados
085	H	4	12	R	PEs y PC der abultados
086	H	12	20	R	PEs y PC izq. abultados
087	H	10	20	R	PEs y PCs abultados
088	H	10	20	B	PEs y PCs abultados
089	H	24	25	B	PEs y PCs abultados
090	H	24	30	B	PE izq. abultado y PCs abulta. lig.
091	H	24	35	B	PEs abultados
092	H	48	40	B	PEs abultados
093	M	8	15	B	PEs abultados
094	H	10	20	B	PEs y PC izq. abultados
095	H	24	25	B	PEs y PCs abultados ligeramente
096	H	12	35	R	PEs y PC izq. abultados
097	H	12	35	D	PE izq. absced., PE der y PCs abul.
098	H	24	35	B	PEs y PC der abultados
099	H	48	35	B	PEs abultados, PCs abulta. ligeram.
100	H	24	35	R	PEs y PCs abultados
101	H	48	50	MB	PC izq. debridado
102	H	48	40	B	PEs abultados ligeramente
103	H	48	35	R	PC izq. abultado

104	H	36	35	B	PCs abultados ligeramente
105	H	48	40	B	PE izq. absce., PE der. y PCs abul. (*)
106	H	48	40	B	PE der. debridado
107	H	60	50	B	PC der. abultado
108	H	48	45	B	Bien, aparentemente
109	M	24	70	B	PE izq. abultado
110	H	48	35	R	PC der. abultado
111	H	12	35	B	Bien, aparentemente
112	H	12	25	B	PEs y PC der. abultados
113	H	24	30	B	Bien, aparentemente
114	H	12	25	B	PE der. abultado ligeramente
115	H	12	25	B	PE der. y PC izq. abultados
116	H	12	25	D	Absceso debridado en costado izquie.
117	M	12	20	R	Bien, aparentemente
118	M	8	20	D	PE izq. abultado ligeramente
119	H	9	20	D	Bien, aparentemente
120	M	9	25	R	Bien, aparentemente
121	H	36	45	B	Bien, aparentemente
122	H	48	50	B	Bien, aparentemente
123	H	48	50	B	Bien, aparentemente
124	H	12	40	B	PEs abultados ligeramente
125	H	24	35	D	PEs abultados
126	H	48	40	R	PE der. abultado
127	M	12	60	B	PC der. abultado
128	H	12	30	R	Bien, aparentemente
129	H	48	35	B	PEs abultados ligeramente
130	H	12	35	R	PEs y PCs abultados ligeramente
131	H	9	25	B	Bien, aparentemente
132	H	48	45	R	Bien, aparentemente
133	H	48	40	D	Bien, aparentemente
134	H	10	35	R	Bien, aparentemente
135	H	36	40	R	PEs abultados lig., PC der. absceda.
136	M	12	30	R	PEs abultados ligeramente
137	H	48	40	B	PEs abultados ligeramente
138	M	10	25	R	Bien, aparentemente
139	M	12	30	R	Bien, aparentemente

140	H	10	30	R	PEs abultados ligeramente
141	H	48	50	R	Bien, aparentemente
142	H	48	40	R	PE der. abultado ligeram.
143	H	48	60	B	Bien, aparentemente
144	M	9	30	B	Bien, aparentemente
145	H	36	40	B	PC izq. abultado ligeram.
146	H	12	25	B	Bien, aparentemente
147	H	12	25	B	Bien, aparentemente
148	H	12	25	D	Bien, aparentemente
149	H	48	40	R	PC izq. abscedado
150	H	48	40	R	Bien, aparentemente
151	H	12	30	R	Bien, aparentemente
152	H	12	30	D	Bien, aparentemente

M= Macho	D= Deprorable	RM(s)= Retromamario (s)
H= Hembra	MD= Muy Deprorable	SP(s)= Subparotideo (s)
MB= Muy Bien	PE(s)= Preescapular(s)	(*)= Absceso debridado en pierna izquierda, a nivel de borde caudal del muslo.
B= Bien	PC(s)= Precrural(s)	
R= Regular	SM(s)= Submandibular(s)	

#### 4. METODO ESTADISTICO:

Los resultados de la prueba de Inhibición de la Hemólisis fueron conjuntados con los obtenidos mediante las exploraciones clínicas realizadas en los animales y se sometieron a análisis y correlación de las variables. Para fines estadísticos, los resultados de la prueba (diluciones) fueron convertidos a logaritmo natural (Wayne, 1977).

## RESULTADOS Y DISCUSIONES

En el cuadro número 2 se detallan los resultados de la prueba de inhibición de la Hemólisis en cada una de las muestras trabajadas (título de anticuerpos). En todos los casos hubo hemólisis en el último orificio (control negativo), lo cual sugiere la ausencia de anticuerpos que inhibieran la hemólisis llevada a cabo por la exotoxina bacteriana.

En cada caso se anota el número del orificio en donde se observó el último botón. Esto indica que ésta fué la última dilución (diluciones dobles) del suero, capaz de inhibir el efecto hemolizante de la toxina de *Corynebacterium pseudotuberculosis*.

Cuadro No. 2: Resultados de la PRUEBA DE INHIBICION DE LA HEMOLISIS.

Núm. CASO	CONTROL NEGATIVO	ULTIMO ORIFICIO CON BOTON	TITULO DE ANTICUERPOS
001	H	2	1 : 4
002	H	4	1 : 16
003	H	3	1 : 8
004	H	4	1 : 16
005	H	4	1 : 16
006	H	5	1 : 32
007	H	3	1 : 8
008	H	6	1 : 64
009	H	4	1 : 16
010	H	6	1 : 64
011	H	6	1 : 64
012	H	3	1 : 8

013	H	4	1 : 16
014	H	4	1 : 16
015	H	3	1 : 8
016	H	2	1 : 46
017	H	2	1 : 46
018	H	4	1 : 16
019	H	3	1 : 8
020	H	0	0 : 64
021	H	2	1 : 46
022	H	3	1 : 84
023	H	2	1 : 44
024	H	2	1 : 4
025	H	3	1 : 8
026	H	3	1 : 8
027	H	3	1 : 8
028	H	2	1 : 4
029	H	2	1 : 4
030	H	3	1 : 8
031	H	2	1 : 4
032	H	3	1 : 8
033	H	5	1 : 32
034	H	4	1 : 16
035	H	1	1 : 2
036	H	4	1 : 16
037	H	1	1 : 2
038	H	1	1 : 2
039	H	3	1 : 8
040	H	2	1 : 4
041	H	3	1 : 8
042	H	1	1 : 2
043	H	2	1 : 4
044	H	1	1 : 2
045	H	5	1 : 32
046	H	4	1 : 16
047	H	3	1 : 8
048	H	0	0
049	H	6	1 : 64

050	H	6	1 : 64
051	H	7	1 : 128
052	H	3	1 : 8
053	H	3	1 : 8
054	H	6	1 : 64
055	H	6	1 : 64
056	H	6	1 : 64
057	H	6	1 : 64
058	H	0	0
059	H	3	1 : 8
060	H	2	1 : 4
061	H	7	1 : 128
062	H	4	1 : 16
063	H	5	1 : 32
064	H	3	1 : 8
065	H	1	1 : 2
066	H	0	0
067	H	5	1 : 32
068	H	4	1 : 16
069	H	6	1 : 64
070	H	3	1 : 8
071	H	5	1 : 32
072	H	4	1 : 16
073	H	2	1 : 4
074	H	5	1 : 32
075	H	3	1 : 8
076	H	3	1 : 8
077	H	4	1 : 16
078	H	3	1 : 8
079	H	3	1 : 8
080	H	2	1 : 4
081	H	3	1 : 8
082	H	4	1 : 16
083	H	3	1 : 8
084	H	3	1 : 8

085	H	1	1 : 2
086	H	3	1 : 8
087	H	4	1 : 16
088	H	2	1 : 4
089	H	5	1 : 32
090	H	2	1 : 4
091	H	3	1 : 8
092	H	4	1 : 16
093	H	5	1 : 32
094	H	3	1 : 8
095	H	3	1 : 8
096	H	2	1 : 4
097	H	5	1 : 32
098	H	4	1 : 16
099	H	3	1 : 8
100	H	2	1 : 4
101	H	2	1 : 4
102	H	1	1 : 2
103	H	2	1 : 4
104	H	1	1 : 2
105	H	2	1 : 4
106	H	6	1 : 64
107	H	2	1 : 4
108	H	1	1 : 2
109	H	2	1 : 4
110	H	2	1 : 4
111	H	2	1 : 4
112	H	3	1 : 8
113	H	1	1 : 2
114	H	2	1 : 4
115	H	4	1 : 16
116	H	4	1 : 16
117	H	2	1 : 4
118	H	2	1 : 4
119	H	1	1 : 2

120	H	2	1 : 4
121	H	1	1 : 2
122	H	1	1 : 2
123	H	1	1 : 2
124	H	1	1 : 2
125	H	2	1 : 4
126	H	1	1 : 2
127	H	2	1 : 4
128	H	1	1 : 2
129	H	1	1 : 2
130	H	2	1 : 4
131	H	1	1 : 2
132	H	1	1 : 2
133	H	1	1 : 2
134	H	2	1 : 4
135	H	3	1 : 8
136	H	0	0
137	H	1	1 : 2
138	H	1	1 : 2
139	H	1	1 : 2
140	H	1	1 : 2
141	H	1	1 : 2
142	H	1	1 : 2
143	H	1	1 : 2
144	H	0	0
145	H	1	1 : 2
146	H	1	1 : 2
147	H	1	1 : 2
148	H	1	1 : 2
149	H	3	1 : 8
150	H	1	1 : 2
151	H	1	1 : 2
152	H	0	0

---

H = hemóllisis



En la gráfica No. 1 puede apreciarse la proporción de los abultamientos según el grado de su severidad. Las características de los agrandamientos también se plasman en el siguiente cuadro:

Cuadro No. 3: Características de los casos con abultamientos.

<u>CARACTERISTICA</u>	<u>CANTIDAD DE CASOS</u>	<u>PORCENTAJE</u>
Abultamientos ligeros	23	20.72 %
Abultamientos francos	69	62.16 %
Abscedaciones	11	9.91 %
Debridaciones	8	7.21 %
Total	111	100.00 %

(VER GRAFICA No. 1).

De los abultamientos encontrados, dos de ellos se localizaron extralinfonodularmente (casos No. 105 y 116), lo cual coincide con lo que reportan Kuria y Ngatia (1990), quienes afirman haber encontrado 6 abscesos (de 54 cabras) localizados subcutáneamente sin implicar los linfonódulos superficiales.

A la exploración clínica, se encontró que el 73.03 % de los casos (111 de 152 caprinos) presentaban abultamientos palpables. En la gráfica No. 2 se muestra las proporciones de los abultamientos según su distribución en el cuerpo de los animales. Esta localización también

puede apreciarse en el cuadro que sigue:

Cuadro No. 4: Localización de los abultamientos en los linfonódulos palpables.

<u>LOCALIZACION</u>	<u>CANTIDAD</u>	<u>PORCENTAJE</u>
Preescapulares	84	48.55%
Precurrales	71	41.04%
Retromamarios	9	5.20%
Submandibulares	4	2.31%
Subparotídeos	5	2.89%
		<hr/>
		99.99%

(VER GRAFICA No. 2).

La distribución de los abultamientos encontrada en el presente estudio, no coincide con la que algunos investigadores reportan. Por ejemplo, Kuria y Ngatia (1990) encuentran una distribución del 68.25 % en preescapulares y del 14.28 % en precurrales; Menzies y Muckle (1989) la encuentran del 66.9 % en región craneal, 18.5 % en región media y del 14.6 % en región caudal; y, Ashfaq y Campbell (1979) la encuentran del 75 % en cabeza y cuello, 15 % en preescapulares y 10 % en flancos y ubre. Esta diferencia puede ser debida a la nula similitud de los sistemas de explotación de los animales que ellos estudiaron, comparados con los del presente estudio.

Preciso es aclarar que al momento de recopilar los datos clínicos, se hizo énfasis en la exploración del sistema linfático (linfonódulos palpables), y aunque se exploraron los otros sistemas, no se llevaron a

cabo los registros completos.

En cuanto a constantes fisiológicas, sólo se tomaron las de algunos animales, por lo que no podemos considerarias como puntos de análisis verdaderos, sin embargo, cabe mencionar que las temperaturas registradas fueron halladas dentro del rango considerado como normal (38.5 a 40.5 C) en cabras.

En el siguiente cuadro se comparan los resultados de la prueba de inhibición de la hemólisis con los datos clínicos anotados.

Cuadro No. 5: Comparación de los datos clínicos con los resultados de la prueba.

MUESTRA NUMERO	(1) SEXO	EDAD (meses)	PESO (kg)	EDO. (2) NUTRIC.	NUMERO DE NODULOS	TITULO (PIH) (Dilución) (Ln)
001	2	8	30	4	0	(1:4) -1.38629
002	2	8	25	4	2	(1:16) -2.77259
003	2	6	15	4	4	(1:8) -2.07944
004	2	48	45	3	1	(1:16) -2.77259
005	2	48	40	2	2	(1:16) -2.77259
006	2	48	50	2	2	(1:32) -3.46574
007	1	7	20	3	2	(1:8) -2.07944
008	2	24	40	4	2	(1:64) -4.15888
009	2	12	30	4	2	(1:16) -2.77259
010	2	36	40	3	2	(1:64) -4.15888
011	1	9	15	4	2	(1:64) -4.15888
012	1	8	15	3	2	(1:8) -2.07944
013	2	26	35	4	2	(1:16) -2.77259
014	2	6	15	2	1	(1:16) -2.77259
015	2	24	35	4	1	(1:8) -2.07944
016	2	36	30	1	0	(1:4) -1.38629
017	2	24	25	3	1	(1:4) -1.38629
018	2	24	20	2	3	(1:16) -2.77259

019	2	6	10	2	1	(1:8)	-2.07944
020	2	24	35	4	1	(0)	0.0
021	2	24	45	4	0	(1:4)	-1.38629
022	2	24	40	4	1	(1:8)	-2.07944
023	1	24	55	4	0	(1:4)	-1.38629
024	1	36	60	4	1	(1:4)	-1.38629
025	2	36	30	2	2	(1:8)	-2.07944
026	2	48	40	3	1	(1:8)	-2.07944
027	2	8	25	4	1	(1:8)	-2.07944
028	2	24	40	4	0	(1:4)	-1.38629
029	2	24	40	3	0	(1:4)	-1.38629
030	2	12	35	4	0	(1:8)	-2.07944
031	2	36	40	3	0	(1:4)	-1.38629
032	1	36	50	5	0	(1:8)	-2.07944
033	1	24	40	5	2	(1:32)	-3.46574
034	2	8	20	4	1	(1:16)	-2.77259
035	1	12	40	4	0	(1:2)	-0.69315
036	2	8	20	3	3	(1:16)	-2.77259
037	2	48	40	4	1	(1:2)	-0.69315
038	2	48	40	4	0	(1:2)	-0.69315
039	2	12	30	3	1	(1:8)	-2.07944
040	2	36	35	4	1	(1:4)	-1.38629
041	2	8	20	4	8	(1:8)	-2.07944
042	1	12	20	3	1	(1:2)	-0.69315
043	2	24	30	2	0	(1:4)	-1.38629
044	2	12	25	4	0	(1:2)	-0.69315
045	2	18	30	4	8	(1:32)	-3.46574
046	2	18	30	3	8	(1:16)	-2.77259
047	2	48	40	4	1	(1:8)	-2.07944
048	2	24	40	5	0	(0)	0.0
049	2	48	35	4	0	(1:64)	-4.15888
050	2	24	35	4	1	(1:64)	-4.15888
051	2	8	20	4	2	(1:128)	-4.85203
052	2	12	30	4	6	(1:8)	-2.07944

053	2	48	35	3	8	(1:8)	-2.07944
054	2	36	30	3	4	(1:64)	-4.15888
055	2	48	35	3	4	(1:64)	-4.15888
056	2	24	35	2	2	(1:64)	-4.15888
057	2	24	40	4	2	(1:64)	-4.15888
058	2	12	20	2	1	(0)	0.0
059	2	8	20	4	1	(1:8)	-2.07944
060	1	10	30	4	1	(1:4)	-1.38629
061	2	36	40	2	2	(1:128)	-4.85203
062	2	48	35	4	0	(1:16)	-2.77259
063	1	8	20	4	1	(1:32)	-3.46574
064	2	36	35	2	2	(1:8)	-2.07944
065	2	10	20	4	2	(1:2)	-0.69315
066	2	24	30	4	6	(0)	0.0
067	2	24	30	2	4	(1:32)	-3.46574
068	2	24	25	2	4	(1:16)	-2.77259
069	2	36	30	3	4	(1:64)	-4.15888
070	2	24	40	4	1	(1:8)	-2.07944
071	2	24	30	3	4	(1:32)	-3.46574
072	2	12	30	4	1	(1:16)	-2.77259
073	2	10	20	4	3	(1:4)	-1.38629
074	2	36	30	3	3	(1:32)	-3.46574
075	2	24	30	4	1	(1:8)	-2.07944
076	2	12	25	3	4	(1:8)	-2.07944
077	1	10	20	4	3	(1:16)	-2.77259
078	2	48	40	4	6	(1:8)	-2.07944
079	2	8	15	3	2	(1:8)	-2.07944
080	2	10	20	4	2	(1:4)	-1.38629
081	2	8	15	4	4	(1:8)	-2.07944
082	2	10	15	4	3	(1:16)	-2.77259
083	2	10	20	3	4	(1:8)	-2.07944
084	1	10	15	3	2	(1:8)	-2.07944
085	2	4	12	3	3	(1:2)	-0.69315
086	2	12	20	3	3	(1:8)	-2.07944
087	2	10	20	3	4	(1:16)	-2.77259

088	2	10	20	4	4	(1:4)	-1.38629
089	2	24	25	4	4	(1:32)	-3.46574
090	2	24	30	4	3	(1:4)	-1.38629
091	2	24	35	4	2	(1:8)	-2.07944
092	2	48	40	4	2	(1:16)	-2.77259
093	1	8	15	4	2	(1:32)	-3.46574
094	2	10	20	4	3	(1:8)	-2.07944
095	2	24	25	4	4	(1:8)	-2.07944
096	2	12	35	3	3	(1:4)	-1.38629
097	2	12	35	2	4	(1:32)	-3.46574
098	2	24	35	4	3	(1:16)	-2.77259
099	2	48	35	4	4	(1:8)	-2.07944
100	2	24	35	3	4	(1:4)	-1.38629
101	2	48	50	5	1	(1:4)	-1.38629
102	2	48	40	4	2	(1:2)	-0.69315
103	2	48	35	3	1	(1:4)	-1.38629
104	2	36	35	4	2	(1:2)	-0.69315
105	2	48	40	4	5	(1:4)	-1.38629
106	2	48	40	4	1	(1:64)	-4.15888
107	2	60	50	4	1	(1:4)	-1.38629
108	2	48	45	4	0	(1:2)	-0.69315
109	1	24	70	4	1	(1:4)	-1.38629
110	2	48	35	3	1	(1:4)	-1.38629
111	2	12	35	4	0	(1:4)	-1.38629
112	2	12	25	4	3	(1:8)	-2.07944
113	2	24	30	4	0	(1:2)	-0.69315
114	2	12	25	4	1	(1:4)	-1.38629
115	2	12	25	4	2	(1:16)	-2.77259
116	2	12	25	2	1	(1:16)	-2.77259
117	1	12	20	3	0	(1:4)	-1.38629
118	1	8	20	2	1	(1:4)	-1.38629
119	2	9	20	2	0	(1:2)	-0.69315
120	1	9	25	3	0	(1:4)	-1.38629
121	2	36	45	4	0	(1:2)	-0.69315
122	2	48	50	4	0	(1:2)	-0.69315

123	2	48	50	4	0	(1:2)	-0.69315
124	2	12	40	4	2	(1:2)	-0.69315
125	2	24	35	2	2	(1:4)	-1.38629
126	2	48	40	3	1	(1:2)	-0.69315
127	1	12	60	4	1	(1:4)	-1.38629
128	2	12	30	3	0	(1:2)	-0.69315
129	2	48	35	4	2	(1:2)	-0.69315
130	2	12	35	3	4	(1:4)	-1.38629
131	2	9	25	4	0	(1:2)	-0.69315
132	2	48	45	3	0	(1:2)	-0.69315
133	2	48	40	2	0	(1:2)	-0.69315
134	2	10	35	3	0	(1:4)	-1.38629
135	2	36	40	3	3	(1:8)	-2.07944
136	1	12	30	3	2	(0)	0.0
137	2	48	40	4	2	(1:2)	-0.69315
138	1	10	25	3	0	(1:2)	-0.69315
139	1	12	30	3	0	(1:2)	-0.69315
140	2	10	30	3	2	(1:2)	-0.69315
141	2	48	50	3	0	(1:2)	-0.69315
142	2	48	40	3	1	(1:2)	-0.69315
143	2	48	60	4	0	(1:2)	-0.69315
144	1	9	30	4	0	(0)	0.0
145	2	36	40	4	1	(1:2)	-0.69315
146	2	12	25	4	0	(1:2)	-0.69315
147	2	12	25	4	0	(1:2)	-0.69315
148	2	12	25	2	0	(1:2)	-0.69315
149	2	48	40	3	1	(1:8)	-2.07944
150	2	48	40	3	0	(1:2)	-0.69315
151	2	12	30	3	0	(1:2)	-0.69315
152	2	12	30	2	0	(0)	0.0

(1): 1 indica MACHO y 2 indica HEMBRA.

(2): 5, 4, 3, 2 Y 1 corresponde a MUY BIEN (MB), BIEN (B), REGULAR (R), DEPROBABLE (D) y MUY DEPROBABLE, (MD) respectivamente.

(Ln): Logaritmo natural.

(PIH): Prueba de Inhibición de la hemólisis.

Al procesar los sueros mediante la PIH, los títulos de anticuerpos resultantes, contra la toxina de *C. pseudotuberculosis*, se encontraron entre las diluciones 1:2 y 1:128, lo cual coincide con lo encontrado por Langenegger y col. (1991). Pero no coincide con lo que reporta Pérez (1993), quizá, debido a que éste trabajó muestras serológicas de ovinos procedentes de rastro. (VER Página No. 11).

En el cuadro siguiente se describe el número de muestras en cada dilución.

Cuadro No. 6: Títulos de Anticuerpos encontrados en la PIH en los 152 sueros de caprinos.

<u>DILUCION</u>	<u>TITULO</u>	<u>CANTIDAD</u>	<u>PORCENTAJE</u>
0	0	7	4.60 %
1	1:2	35	23.03 %
2	1:4	33	21.71 %
3	1:8	34	22.37 %
4	1:16	20	13.16 %
5	1:32	10	6.58 %
6	1:64	11	7.24 %
7	1:128	<u>2</u>	<u>1.31 %</u>
T o t a l:		152	100.00 %

(VER GRAFICA No. 3).

En la gráfica No. 3 se muestran los resultados de la prueba realizada, de acuerdo a la proporción de las muestras en cada dilución.

Como puede verse, la mayor proporción de las muestras se encontraron entre las diluciones 1:2, 1:4, 1:16 y 1:32 con un 80.27 %.



De los 152 casos, 7 no presentaron título alguno (4.60 %), sin embargo, solo 3 de estos animales no mostraban abultamientos (casos No. 48, 144 y 152). Lo anterior sugiere que la PIH detecta anticuerpos aún en animales clínicamente sanos.

Por otro lado, se encontró que el 95.40 % de los animales (145 de 152 caprinos) dieron resultados positivos a la prueba. Esta seropositividad está muy por encima de lo que algunos investigadores reportan utilizando la misma prueba, por ejemplo, Brown y col. (1989) y, Langenegger y col. (1991). Esta diferencia puede deberse a la alta incidencia de la enfermedad en los rebaños estudiados en el presente trabajo, así como a la diferencia en el tamaño de la muestra.

Sin embargo, la seropositividad obtenida en el presente estudio, coincide con lo que otros investigadores reportan haciendo uso de la misma prueba serológica. Por ejemplo, Holstad (1986) encuentra una seropositividad del 98 % en cabras mayores de 7 años, Brown y col. (1986) también la encuentran del 98 % en cabras y, Kuria y Holstad (1989) hasta del 85 %, en la misma especie.

#### Análisis estadístico de las variables:

<u>VARIABLE</u>	<u>MEDIA</u>	<u>DESVIACION ESTANDAR</u>	<u>MINIMA</u>	<u>MAXIMA</u>
I. Sexo	1.8487	0.3595	1	2
II. Edad	24.4211	15.4601	4	60
III. Peso	32.1513	10.7023	10	70
IV. Edo. Nutric.	3.4376	0.7856	1	5
V. No. de Nódulos	1.7961	1.7879	0	8
VI. Título de Ac.	1.8834	1.1489	0	4.852

Como puede verse, la edad osciló entre 4 y 60 meses, el peso entre 10 y 70 kg y el promedio del estado nutricional fué de 3.4276 (entre regular y bueno). Cabe mencionar que las 100 primeras muestras fueron tomadas el día 24 de junio de 1992, y las 52 restantes el día 4 de agosto del mismo año. Lo anterior indica que el muestreo fué realizado en la época de escasez de pasturas, razón por la que no se podría esperar un buen peso y estado nutricional en los animales.

De todos los animales, 41 de ellos (26.97 %) no mostraban abultamiento superficial alguno, sin embargo, solo 3 no presentaron título de anticuerpos, y el resto presentó títulos variables. En el siguiente cuadro se agrupan los animales que no mostraban abultamientos:

Cuadro No. 7: Resultados serológicos y edades de los animales sin abultamientos superficiales.

<u>TITULO DE ANTICUERPOS</u>	<u>CANTIDAD DE CASOS</u>	<u>RANGO DE EDADES</u>	<u>PORCENTAJE</u>
0	3	9 a 24 meses	1.97 %
1: 2	22	9 a 48 meses	14.47 %
1: 4	12	9 a 36 meses	7.89 %
1: 8	2	12 a 36 meses	1.32 %
1: 16	1	48 meses	0.66 %
1: 32	0	- - - - -	0.00 %
1: 64	1	48 meses	0.66 %
Subtotal	41		26.97 %

Por otro lado, los 111 animales restantes (73.03 %) que sí mostraban abultamientos superficiales, se agrupan como sigue:

Cuadro No. 8: Resultados serológicos y edades de los animales con abultamientos superficiales.

<u>TITULO DE ANTICUERPOS</u>	<u>CANTIDAD DE CASOS</u>	<u>RANGO DE EDADES</u>	<u>PORCENTAJE</u>
0	4	2 a 24 meses	2.63 %
1: 2	13	4 a 48 meses	8.55 %
1: 4	21	8 a 60 meses	13.82 %
1: 8	32	6 a 48 meses	21.05 %
1: 16	19	6 a 48 meses	12.50 %
1: 32	10	8 a 48 meses	6.58 %
1: 64	10	9 a 48 meses	6.58 %
1: 128	<u>2</u>	8 a 36 meses	<u>1.32 %</u>
Subtotal	111		73.03 %

La mayor cantidad de los animales que no presentaban abultamientos, dieron títulos más bajos (1:2 y 1:4). Por el contrario, los que sí presentaban abultamientos, dieron títulos más altos.

Matriz de correlación:

	SEXO	EDAD (meses)	PESO (kg)	ESTADO NUTRIC.	No. DE NODULOS	TITULO (Ln)
SEXO	1.0					
EDAD	.28556	1.0				
PESO	.02492	.68072	1.0			
EDO. NUTRIC.	-.09764	.01997	.20491	1.0		
No. NODULOS	.17832	-.07785	-.25657	-.01293	1.0	
TITULO (LN)	.06105	-.00437	-.14242	-.05905	.36925	1.0

valor crítico (1 cola) .05) = + ó - .13397

valor crítico (2 colas) .05) = +/- .15924

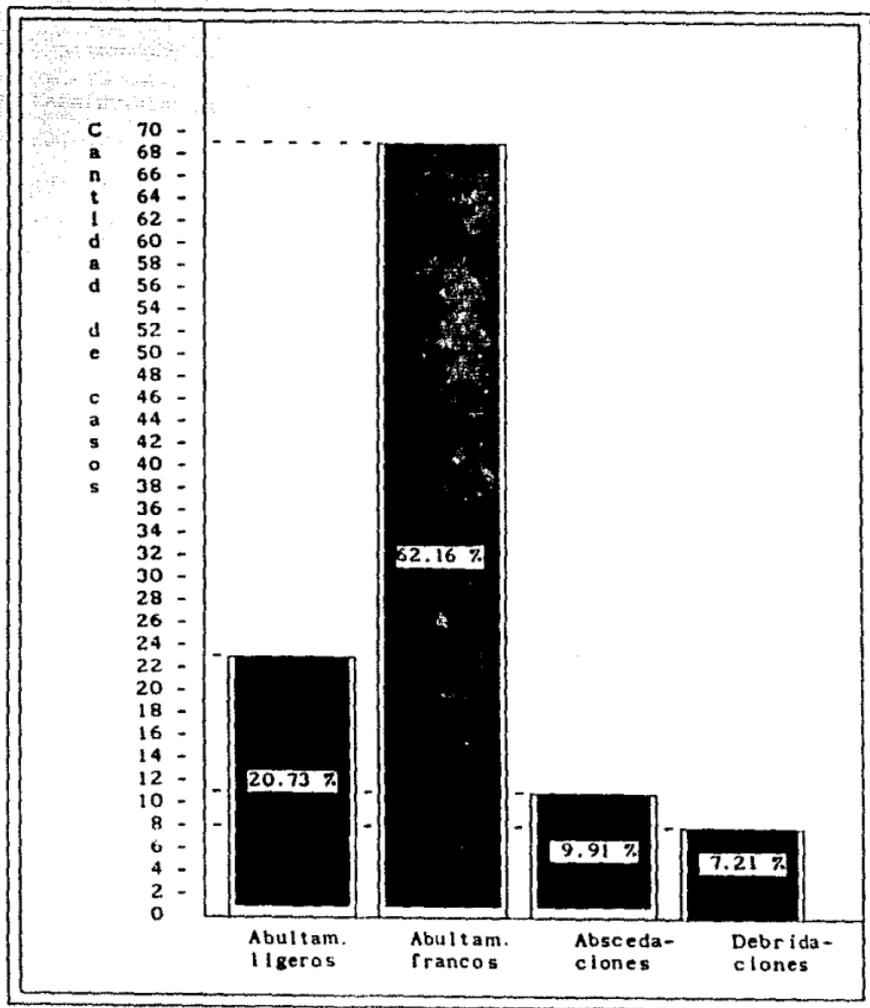
Como puede apreciarse en la matriz de correlación, se encontró una correlación positiva entre el título y el número de nódulos, lo cual indica que a medida que aumente ó disminuya el número de nódulos en los animales, lo hará también el título de anticuerpos, lo cual coincide con lo que Brown y col. (1987) afirman.

También se encontró una correlación positiva entre el peso y el estado nutricional, entre la edad y el peso, entre el sexo y la edad, y entre el sexo y el número de nódulos. Estas dos últimas correlaciones significan que las hembras tienen mayor edad y mayor número de nodulaciones, lo cual es explicable, dado que éstas, al tener que gestar y amamantar, se encuentran en un estado inmunológico inferior comparado con los machos, y las hembras son los animales de mayor vida productiva. Aunque también hay que considerar que 23 machos entre 129 hembras no es muy representativo.

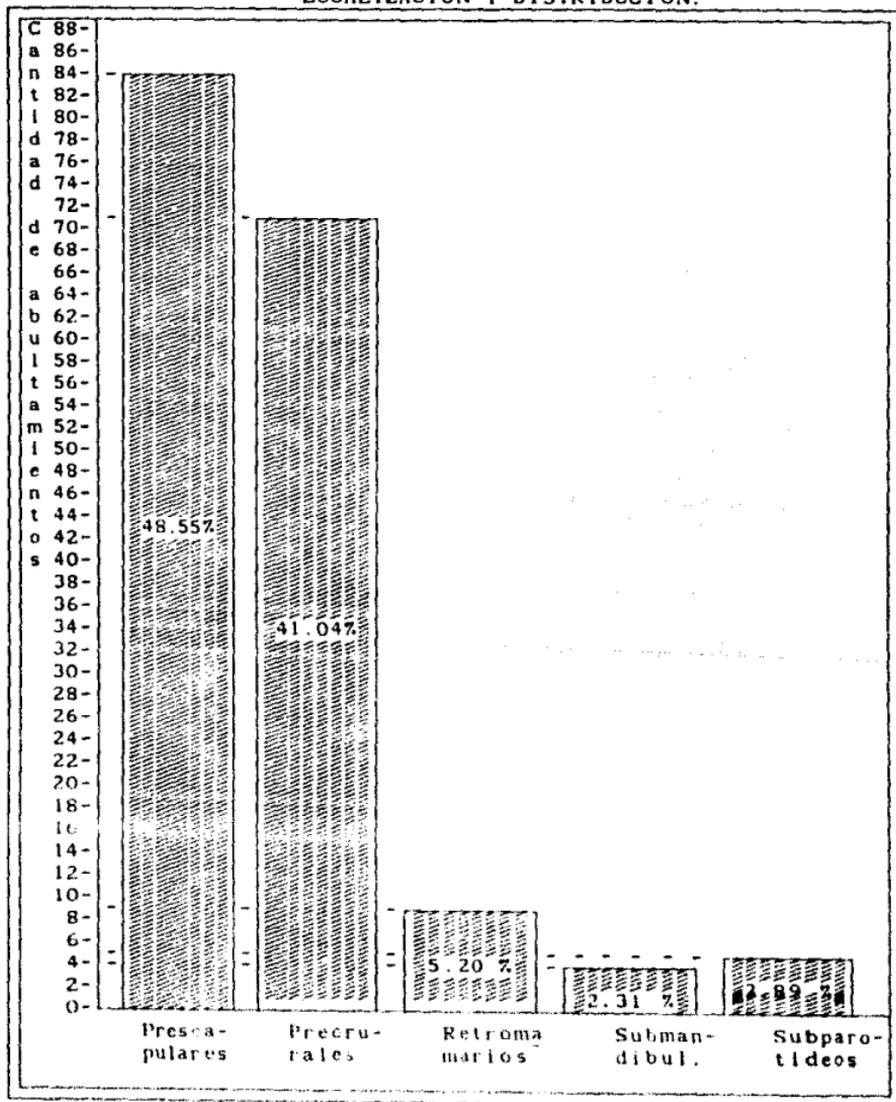
Se observó una correlación negativa entre el peso y el número de nódulos, que indica que los animales con menor peso tenían mayor número de nodulaciones y viceversa. Esto coincide con lo que muchos autores afirman al mencionar que precisamente, uno de los principales signos de la enfermedad es la emaciación progresiva de los animales, así como el aumento en el número de las nodulaciones.

Se obtuvo también una correlación negativa entre el peso y el título de anticuerpos, que indica que los animales menos pesados presentan un mayor título de anticuerpos, y viceversa.

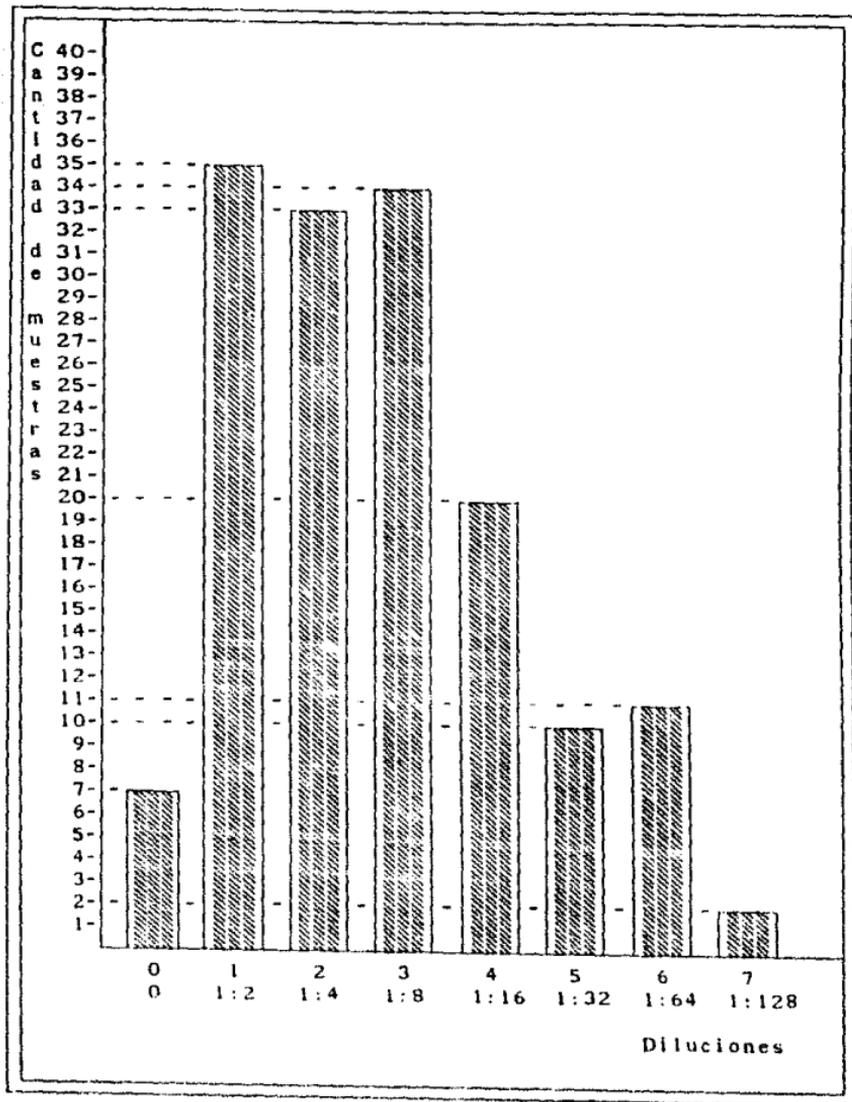
Gráfica No. 1: REPORTE DE LOS ABULTAMIENTOS EN LOS LINFONODULOS PALPABLES DE CABRAS DE LA COSTA CHICA DE GUERRERO, SEGUN SUS CARACTERISTICAS.



Gráfica No. 2: REPORTE DE LOS ABULTAMIENTOS DE LOS LINFONODULOS PALPABLES EN CABRAS DE LA COSTA CHICA DE GUERRERO, SEGUN SU LOCALIZACION Y DISTRIBUCION.



Gráfica No. 3: REPORTE DE LOS TITULOS DE ANTICUERPOS EN LAS MUESTRAS SEROLOGICAS DE CABRAS DE LA COSTA CHICA DE GUERRERO.



## CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos en el presente estudio, se concluye lo siguiente:

- 1.- La prueba de inhibición de la hemólisis es económica, práctica y capaz de detectar anticuerpos contra la toxina de *C. pseudotuberculosis*, aún en animales clínicamente libres de linfadenitis caseosa.
- 2.- Utilizando esta prueba en un total de 152 muestras serológicas, el 95.40 % dieron resultados positivos.
- 3.- El 80.27 % de las muestras estudiadas (122 de 152) presentó títulos de 1:2, 1:4, 1:8 y 1:16, siendo el más frecuente el primero.
- 4.- En los animales con signos clínicos de la enfermedad, el título de anticuerpos aumenta significativamente.
- 5.- Al analizar estadísticamente los resultados, se encontró que al menos en los animales muestreados, existe una correlación positiva entre el número de nodulaciones y el título de anticuerpos, así como también una correlación negativa entre el peso de los animales y el número de nodulaciones.
- 6.- A fin de determinar el grado de confiabilidad de la prueba en cuestión, en estudios posteriores, se recomienda realizarla en lotes de animales sanos, vacunados y clínicamente enfermos, ó bien, comparar los resultados con los de un laboratorio de referencia.



## LITERATURA CITADA

- Amerongen, J.J. van; Caballero, M.; Alfaro, A.; Rojas, N.; Jimenez, F. (1988). Pseudotuberculosis of goats in Costa Rica. Ciencias Veterinarias, Costa Rica. 10: 3, 35-38.
- Ashfaq, M.K. y Campbell, S.G. (1979). A survey of caseous lymphadenitis and its etiology in goats in the United States. Veterinary Medicine, Small Animal Clinician. Agosto/1979. pp 1161-1165.
- Blood, D.C.; Henderson, J.A. y Radostits, O.M. (1988). Linfadenitis Caseosa de los Ovinos. Medicina Veterinaria. 6a. ed. Ed. Interamericana México, D.F. pp 566-567.
- Brown, C.C.; Olander, H.J.; Alves, S.F. (1987). Synergistic hemolysis-inhibition titers associated with caseous lymphadenitis in a slaughterhouse survey of goats and sheep in Northeastern Brazil. Canadian Journal of Veterinary Research. 51: 1, 46-49.
- Brown, C.C.; Olander, H.J.; Castro, A.E.; Behymer, D.E. (1989). Prevalence of antibodies in goats in North-Eastern Brazil to selected viral and bacterial agents. Tropical Animal Health and Production. School of Veterinary Medicine, University of California. 21: 3, 167-169.

- Brown, C.C.; Olander, H.J.; Zometa, C.; Alvez, S.F. (1986). Serodiagnosis of inapparent caseous lymphadenitis in goats and sheep, using the synergistic hemolysis inhibition test. American Journal of Veterinary Research. 47 (7). p 1461-3.
- Burrell, D.H. (1980). A hemolysis inhibition test for detection of antibody to *Corynebacterium ovis* exotoxin. Research in Veterinary Science. 28, 190-194.
- Dravecky, T.; Travnicek, M.; Balascak, J.; Zubricky, P.; Skalka, B.; Zeleny, I.; Seidl, H. (1986). Outbreak of caseous lymphadenitis in goats. Veterinarstvi. 36:10, 456-457.
- Erganis, O.; Kaya, O.; Ates, M.; Istambulluoglu, E. (1990). Microbiological studies on purulent lymph nodes of sheep slaughtered at the abattoir of the Konya Meat and Fish Organization and a serological survey. Veterinarium. 1: 1, 8-11.
- Favier, B.; Richard, Y.; Oudar, J.; Borges, E. (1990). Bacteriological study of 58 strains of *Corynebacterium pseudotuberculosis*. Sensitivity to antibiotics. Revue de Medecine Veterinaire 141: 10, 743-748.
- García, V. S. y Ciprian, C. A. (1986). Linfadenitis Caseosa. Principales Enfermedades de los Ovinos y Caprinos. Coordinación de Posgrado de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlan, U.N.A.M. México, D.F. pp 235-239.

- Gezon, H.M.; Bither, H.D.; Hanson, L.A.; Thompson, J.K. (1991).  
Epizootic of external and internal abscesses in a large  
goat herd over a 16-year period. Journal of the American  
Veterinary Medical Association. 198: 2, 257-263.
- Holstad, G. (1988). *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection  
in goats in Norway, with special reference to diagnosis,  
natural and experimental infection, and  
immunoprophylactic measures. Norwegian College of  
Veterinary Medicine. 24 pp.
- Holstad, G. (1986). *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection  
in goats. I. Evaluation of serological diagnostic tests.  
Acta Veterinaria Scandinavica. 27: 4, 575-583.
- Holstad, G. (1986). *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection  
in goats. II. The prevalence of caseous lymphadenitis in  
36 goat herds in northern Norway. Acta Veterinaria  
Scandinavica 27: 4, 588-597.
- Holstad, G. (1986). *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection  
in goats. III. The influence of age. Acta Veterinaria  
Scandinavica. 27: 4, 598-608.
- Holstad, G. (1986). *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection  
in goats. IV. Course of the infection in two recently  
infected goat herds. Acta Veterinaria Scandinavica. 27:  
4, 609-616.

- Holstad, G. (1989). *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in goats. IX. The effect of vaccination against natural infection. Acta Veterinaria Scandinavica. 30: 3, 285-293.
- Johnson, E.H.; Soto Vidal, C.E.; Santa Rosa, J. (1988). Comparison of a diffusion in gel-enzyme linked immunosorbent assay (Dig-ELISA) and the synergistic hemolysis inhibition assay to record the antibody response of goats to the exotoxin of *Corynebacterium pseudotuberculosis*. Revista de Microbiologia, Brazil. 19: 4, 374-378.
- Kuria, J.K.N.; Holstad, G. (1989). A seroepidemiological investigation of *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in sheep flocks in southern Norway. Acta Veterinaria Scandinavica. 30: 1, 107-108.
- Kuria, J.K.N.; Ngatia, T.A. (1990). Caseous lymphadenitis of sheep and goats in Kenya. Bulletin of Animal Health and Production in Africa. 38: 1, 15-18.
- Laak, E.A. ter; Schreuder, B.E.C. (1991). Serological diagnosis of caseous lymphadenitis in goats and sheep. Veterinary Record. 128: 18, 436.
- Langenegger, C.H.; Langenegger, J.; Costa, S.G. (1987). An allergen for the diagnosis of caseous lymphadenitis in goats. Pesquisa Veterinaria Brasileira. 7: 2, 27-32.

- Langenegger, C.H.; Langenegger, J.; Scherer, P.O. (1991).  
Prevalence and comparative diagnosis of caseous lymphadenitis in goats in Rio de Janeiro State. Pesquisa Veterinaria Brasileira. 11: 1-2, 31-34.
- Lindsay, H.J.; Lloyd, S.(1991). Diagnosis of caseous lymphadenitis in goats. Veterinary Record. 128: 4, 86.
- Meldrum, K.C. (1990). Caseous Lymphadenitis outbreak. Veterinary Record. 126: 15, 369.
- Melvin, k. Abelseth; et al (1988). Linfadenitis Caseosa. El Manual Merk de Veterinaria. 3a. ed. Ed. CENTRUM. Madrid, España. pp 74-75.
- Menzles, P.I.; Muckle, C.A. (1989). The use of a microagglutination assay for the detection of antibodies to *Corynebacterium pseudotuberculosis* in naturally infected sheep and goat flocks. Canadian Journal of Veterinary Research. 53: 3, 313- 318.
- Merchant, I.A. y Packer, R.A. (1970). *Corynebacterium pseudotuberculosis*. Bacteriología y Virología Veterinarias. 3a. ed. Ed. Acribia. Zaragoza, España. pp 443-445.
- Morilla, G. y C. R. Bautista (1986). Manual de Inmunología. 1a. Edición. Editorial Diana. México, D.F.

- Nuttall, W. (1988). Caseous lymphadenitis in sheep and goats in New Zealand. Surveillance, New Zealand. 15: 1, 10-12.
- Ocadiz, G.J. (1987). Pseudotuberculosis en: Epidemiología de animales domésticos. Control de enfermedades. Universidad Autónoma de Chapingo. Edit. Trillas. México. pp 93-94.
- Oliveira, S.C.; Langenegger, J.; Langenegger, C.H.; Meyer, R. (1992). Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), optimal conditions for detection of antibodies produced against *Corynebacterium pseudotuberculosis*. Revista de Microbiología. 23: 4, 231-234.
- Pérez, M.M.A. (1993). Prueba de inhibición de la hemólisis para diagnóstico de linfadenitis caseosa. Tesis Licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, U.N.A.M.
- Piran, V.F. (1990). Development of a dot blot assay for serodiagnosis of caseous lymphadenitis using a purified axotoxin as antigen. University of California, Davis. DAI 51/08B, p 3725.
- Radwan, A.I.; Magawry, S.; Hawari, A.; Bekairi, S.I.; Rebleza, R.M. (1989). *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in camels (*Camelus dromedarius*) in Saudi Arabia. Tropical Animal Health and Production. 21: 4, 229-230.

- Ribeiro, O.C.; Silva, J.A.H.; Maia, P.C.C.; Campos, W.G.; (1988). Evaluation of an inactivated vaccine against caseous lymphadenitis in goats under extensive management. Pesquisa Veterinaria Brasileira. 8: 1-2, 27-29.
- Schreuder, B.E.C.; Laak, E.A. ter; Gee, A.L.W. de; (1990). *Corynebacterium pseudotuberculosis* in milk of CL affected goats. Central Veterinary Institute, Netherlands. Veterinary Record. 127: 15, 387.
- Sutherland, S.S.; Paton, M.W.; Mercy, A.R.; Ellis, T.M. (1987). A reliable method for establishing caseous lymphadenitis infection in sheep. Australian Veterinary Journal. 64: 10, 323-324.
- Sutherland, S.S.; Speijer, E.J.; Andres, B. (1989). Comparison of the exotoxins of four strains of *Corynebacterium pseudotuberculosis*. Research in Veterinary Science. 47: 2, 190-194.
- Wayne, W. Daniel (1977). Bioestadística: Bases para el análisis de las ciencias de la salud. Edit. Limusa, México. pp 1-30 y 291-322.
- Zhao, H.K.; Hisaeda, K.; Hiramune, T.; Kikuchi, N.; Ogasawara, T.; Yokoyama, A.; Hirokawa, K. (1987). A survey on *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in sheep and serodiagnosis of the infection. Journal of the Japan Veterinary Medical Association. 40: 4, 281-285.