

## BRUCELOSIS BOVINA: ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE LA ELECTROFORESIS Y LA SEROLOGÍA CLÁSICA <sup>1</sup>

(Bovine brucellosis: A comparative study between electrophoresis and classical serology)

Bordallo Alvarez, L.\*; Cuello Gijón, F.\*\*; Crespo León, F.\* y M.<sup>a</sup> C. Gallego Ruiz\*\*

\* Centro Nacional de Referencia de Brucelosis. El Palmar. Murcia.

\*\* Departamento de Microbiología e Inmunología. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia.

Recibido: 25 marzo

### RESUMEN

Se ha evaluado la electroforesis como técnica diagnóstica en brucelosis bovina frente a tres pruebas clásicas en serología: seroaglutinación lenta de Wright, seroaglutinación con 2-mercaptoetanol y reacción de fijación del complemento.

Las fracciones proteínas totales, alfa-1, beta-2 y globulinas totales alcanzan valores significativamente más elevados en los individuos con diagnóstico positivo por SAL o ME, mientras que los diagnosticados como positivos por RFC muestran esta significación en los niveles de proteínas totales, albúmina, alfa-1 y beta-2 globulinas.

El análisis de datos centrados no diferencia entre individuos positivos o negativos en base a los resultados del análisis electroforético. El análisis discriminante, en base a la cuantificación de las fracciones del proteinograma, nos muestra la no concordancia entre los resultados positivos sospechosos y negativos de las pruebas clásicamente aceptadas como diagnósticas, y los que la electroforesis señala como tales.

**Palabras clave:** Brucelosis. Electroforesis. Aglutinación. Mercaptoetanol. Reacción de fijación del complemento.

### SUMMARY

An evaluation of an electrophoretic analysis was carried out to estimate the value of this method as a diagnostic technic versus the classical ones: serum agglutination (SAT), 2-mercaptoethanol (ME) and complement fixation test (CFT).

Serum fractions alfa-1, beta-2 with total proteins and total globulins reach amounts significantly higher in individuals with brucellosis detected through ME or SAT. In CFT, albumin, alfa-1 and beta-2 globulins are the significative fractions.

The centered data analysis shows no differentiation between positive individuals according to the results of the electrophoretic method.

Through the discriminating analysis, it is noticed that the percentages of individuals detected as negative, suspicious or positive by means of the electrophoretic method are not coincident with those reported by each of the serological tests.

**Keywords:** Brucellosis. Electrophoresis. Agglutination. Mercaptoethanol. Complement fixation test.

<sup>1</sup> Un resumen de este trabajo se presentó como comunicación al II Congreso Nacional de Buiatría. Murcia 29 al 31 de octubre 1984.

## INTRODUCCIÓN

El diagnóstico serológico de la brucelosis bovina se enfrenta con el problema de la propia respuesta orgánica ante el agente infeccioso, ya que aunque la naturaleza y dinámica de producción de anticuerpos es semejante, varía según se trate de infección natural o de reacción postvacunal introduciéndose en este segundo caso, otras fuentes de variación, cuales son el tipo de vacuna empleada, la edad del animal, etc.

Por otra parte, la detección de anticuerpos está en función de la sensibilidad y especificidad de la técnica empleada, de las distintas clases de inmunoglobulinas y de su concentración sérica (CHAPPEL et al., 1977), fase clínica de la enfermedad, estado inmunitario del animal y carácter de la estimulación antigénica (KAEBERLE, 1973).

El estudio electroforético de las inmunoglobulinas que intervienen en las reacciones serológicas, revela actividad aglutinante en las fracciones gamma y beta (RICARDI et al., 1976), así como en otras de movilidad electroforética intermedia (BRINLEY MORGAN, 1967).

En el presente trabajo, y dado que el análisis electroforético revela alteraciones de algunas de las fracciones globulínicas en determinados procesos infecciosos (PAGE et al., 1967; BLANCO, 1978; CUELLO, 1979), se realiza un estudio comparativo entre la electroforesis sérica y otras técnicas clásicas en el diagnóstico de la brucelosis—seroaglutinación lenta (SAL), seroaglutinación con 2-mercaptoetanol (ME) y reacción de fijación del complemento (RFC)—, con el propósito de comprobar su posible utilidad para determinar el estado de infección de un animal o de un colectivo sospechoso.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se han sometido a análisis serológico y electroforético 189 muestras de suero sanguíneo correspondientes a otros tantos bovinos de la raza Holstein-Frisian, con edades comprendidas entre 1 y 5 años, procedentes de diversas zonas de la provincia de Córdoba.

Se realizaron las pruebas de SAL en tubo según la técnica de Wright, ME y la microtécnica de RFC (ALTON et al., 1976). El antígeno empleado se elaboró a partir de la capa 1119-3 de *B. abortus*, siguiendo el protocolo experimental de los autores antes citados.

El estudio electroforético se lleva a cabo sobre acetato de celulosa (Cellogel), aplicando 3-4 µl de suero a 1 cm. del borde catódico, y siendo las condiciones de migración 220 v. durante 65 min., en tampón veronal sódico 0'04 M. Una vez realizada la migración, se colorean las tiras con Negro

Amido 10B y se decoloran con decolorante metílico (GRAS, 1967). La densitometría de los feroogramas se realiza en un fotodensitómetro automático ATOM 428 DIGISCAN.

Los valores absolutos de cada una de las seis fracciones del proteinograma (albúmina, alfa-1, alfa-2, beta-1, beta-2 y gamma globulinas), así como del cociente albúmina/globulinas (A/G) y de proteínas totales, correspondientes a cada uno de los grupos de sueros establecidos según su título en las pruebas serológicas, se han sometido a análisis de varianza, complementado, al introducir criterios de positividad o negatividad, y para aquellas variables que presentan variación significativa, con una prueba T de Tukey, al objeto de detectar el grado de diferenciación entre estos grupos cualitativos.

En RFC, el análisis de varianza, al no existir grupo sospechoso, se ha sustituido por una prueba T de Student con análogo fin.

El análisis de datos centrados y el discriminante, por enfrentamiento de los valores del electroferograma con los resultados de la serología, tratan de evaluar la capacidad diagnóstica de la electroforesis.

## RESULTADOS

Los valores absolutos y porcentuales de los resultados obtenidos por SAL, ME y RFC, en cuanto a positividad y negatividad se refiere, se expresan en el cuadro 1, tomando como límite para SAL y ME, una aglutinación del 50%, y para RFC igualmente una fijación al 50%.

CUADRO 1  
TAMAÑOS ABSOLUTO Y RELATIVO (%)  
DE LOS GRUPOS CUALITATIVOS (I, II Y  
III) ESTABLECIDOS SEGÚN LOS TÍTULOS  
ALCANZADOS EN LAS PRUEBAS  
SEROLÓGICAS  
(SAL: SEROAGLUTINACIÓN LENTA, ME: AGLUTINACIÓN  
CON 2-MERCAPTOETANOL, RFC: REACCIÓN DE  
FIJACIÓN DEL COMPLEMENTO)

GRUPOS		SAL	ME	RFC
I.	Negativos	95	126	95
		50'26%	66'66%	50'26%
II.	Sospechosos	22	8	
		11'64%	4'23%	
III.	Positivos	72	55	94
		38'09%	29'10%	49'74%

(I) SAL y ME  $\leq$  40 UI/ml. RFC  $\leq$  1/2.

(II) SAL y ME = 80 UI/ml.

(III) SAL y ME  $\geq$  160 UI/ml. RFC  $\geq$  1/4.

Los datos referentes a especificidad y sensibilidad de cada una de las pruebas serológicas, se recogen en el cuadro 2. En los cuadros 3, 4 y 5 se expresan los parámetros estadísticos de los grupos cualitativos establecidos en la serología, reflejándose los valores F del análisis de varianza, los T de la prueba de Tukey y T de Student, en los cuadros 6, 7 y 8.

Los valores medios de las variables que muestran diferencias significativas en cada uno de los grupos cualitativos establecidos, se expresan en las figuras 1-3.

## DISCUSIÓN

El estudio serológico pone de manifiesto la distinta eficacia diagnóstica de las tres pruebas realizadas, por cuanto que difieren entre sí los porcentajes de positividad detectados por cada una de ellas (cuadro 1), hecho que aparece también en la bibliografía consultada (VALETTE, 1974; PATTERSON et al., 1976; ALLAN et al., 1976; CHAPPEL et al., 1978).

La valoración de cada una de estas técnicas clásicas por comparación con un «estado probable de infección» establecido para cada suero (CHAPPEL et al., 1978), asigna a cada muestra un valor positivo o negativo según los resultados obtenidos en RFC y ME, por ser estas las reacciones que evidencian la IgG, testigo seguro de infección (ELBERG, 1973; VALETTE, 1974).

De esta forma, consideramos que un suero negativo a ambas pruebas, es muy improbable que pertenezca a un animal infectado. De igual manera, un suero positivo en dichas pruebas, o en una sola con un título significativo, es muy improbable que pertenezca a un animal sano.

Partiendo de estas premisas, podemos estimar el número de falsos reaccionantes negativos en cada uno de los tres tests, así como los falsos reaccionantes positivos en SAL, aunque no nos

sería posible hallar la proporción de estos en ME y RFC.

Los resultados obtenidos se expresan en el cuadro 2, en el que se observa que la prueba que presenta mayor sensibilidad es la RFC, con un 99'0%, paralela a la obtenida por LAMBERT et al. (1962) y GARATEA et al. (1981) y un 0'52% de falsos reaccionantes negativos, frente al 12'0% de CHAPPEL et al. (1978).

Al igual que ocurre con la ME, no podemos hallar la proporción de falsos reaccionantes positivos, ya que con ambas pruebas hemos establecido el «estado probable de infección», sin embargo sí confrontamos los datos de otros autores, que encuentran para RFC una especificidad del 88'2% (GARATEA et al. 1981) y un porcentaje de falsos positivos del 1'0% para YANTZIS (1981) y del 14'0% para HERR et al. (1982).

La SAL muestra una sensibilidad del 72'0% con un 13'75% de falsos negativos, achacable probablemente a la presencia en estos animales, de una brucelosis crónica no detectable en muchas ocasiones mediante SAL ante la baja o nula tasa de IgM en estos casos y/o a la ausencia de IgG2 en cantidad suficiente para ser detectada por esta técnica, estimaciones apuntadas por otros autores, que encuentran valores aproximados a los nuestros; así ALTON et al. (1975) obtienen un 11'0% de falsos negativos al enfrentar este análisis con el cultivo bacteriológico, sin embargo nuestras cifras son significativamente inferiores a las encontradas por CHAPPEL et al. (1978) con un 35% de estos aparentes negativos.

Hemos de hacer notar que detectamos fenómeno de zona en seis sueros (3'17%), desapareciendo al emplear solución hipersalina (CINa al 5'0%) como diluyente del suero, valor que está en la línea de ROUX (1978) quien en brucelosis humana encuentra un 3'0% de sueros con igual característica.

La especificidad encontrada es del 95'0%, con una proporción del 2'11% de falsos reaccionantes positivos, comparable a los resultados de CHAPPEL et al. (1978) con un 5'0% utilizando los mismos criterios de comparación.

La aglutinación con 2-ME arroja una sensibilidad del 58'0% con el 21'16% de falsos reaccionantes negativos. Hemos de resaltar que con esta técnica encontramos una reducción de títulos en el 53'96% de los sueros, achacable a la posible presencia de un mayor nivel de IgM; otros autores encuentran valores alrededor del 80'0% (GARRIDO y MIRANDA, 1974; CHAPPEL et al., 1978).

Se encontró fenómeno de zona en 35 sueros (18'51%) y paradójicamente nueve muestras presentaron un título aglutinante superior por ME que por SAL.

Para establecer los porcentajes de sensibilidad y especificidad antes señalados, se han seguido

CUADRO 2  
RESULTADOS DE SENSIBILIDAD (SENS.),  
ESPECIFICIDAD (ESPE.), FALSOS  
NEGATIVOS (FN.) Y FALSOS POSITIVOS  
(FP.) ENCONTRADOS EN CADA UNA DE  
LAS PRUEBAS, SEGÚN EL ESTADO  
PROBABLE DE INFECCIÓN

	SENS. %	FN. %	ESPE. %	FP. %
SAL	72'00	13'75	95'00	2'11
ME	58'00	21'16		
RFC	99'00	0'52		

las recomendaciones de CLARKE (1977), concretadas en las expresiones:

$$\text{Sensibilidad} = \frac{\text{positivos verdaderos}}{\text{positivos verdaderos} + \text{negativos falsos}} \times 100$$

$$\text{Especificidad} = \frac{\text{negativos verdaderos}}{\text{negativos verdaderos} + \text{positivos falsos}} \times 100$$

La evaluación de la electroforesis como método diagnóstico frente a los tests habitualmente empleados en serología clásica, la hemos realizado a través de un tratamiento estadístico por medio de tres estudios analíticos sucesivos.

El análisis de varianza nos pone constante-

mente de manifiesto un perfilamiento claro entre los grupos I y III (negativos y positivos) para SAL y ME en cuanto a las variables proteínas totales, alfa-1, beta-2 y globulinas totales se refiere.

Por su parte, el grupo II (sospechosos) no manifiesta una diferencia neta con I y III, por cuanto que las medias de sus variables no lo definen de forma clara. Solamente existe una excepción para beta-2 en SAL entre II y III, y para alfa-1 en ME entre I y II (cuadro 7).

En lo que respecta al análisis de varianza con RFC, son las variables proteínas totales, albúmina, alfa-1 y beta-2 las que presentan una elevación clara de sus valores (cuadro 8).

La bibliografía consultada al respecto, aporta datos diversos sobre las fracciones del proteino-

CUADRO 3  
MEDIA Y COEFICIENTE DE VARIACIÓN DE LAS FRACCIONES DEL PROTEINOGRAMA PARA LOS GRUPOS SAL-I (NEGATIVOS), SAL-II (SOSPECHOSOS) Y SAL-III (POSITIVOS)

FRACCIONES	SAL-I		SAL-II		SAL-III	
	$\bar{X}$ (g.p.100)	CV %	$\bar{X}$ (g.p.100)	CV %	$\bar{X}$ (g.p.100)	CV %
Pr. tot.	8'0305 ± 0'2908	17'78	8'5045 ± 0'6284	16'67	8'9056 ± 0'3551	16'97
Albúmina	3'2156 ± 0'1914	29'22	3'3373 ± 0'3256	22'01	3'3118 ± 0'1498	19'25
Alfa 1	0'4423 ± 0'0330	36'66	0'4773 ± 0'0590	27'91	0'5278 ± 0'0438	35'32
Alfa 2	0'7658 ± 0'0660	42'33	0'7391 ± 0'0970	29'62	0'7661 ± 0'0534	29'68
Beta 1	0'9214 ± 0'0589	31'40	0'9368 ± 0'1122	27'01	0'9479 ± 0'0647	29'05
Beta 2	0'9686 ± 0'0672	34'06	1'1423 ± 0'1304	25'76	1'3807 ± 0'1271	39'18
Gamma	1'7020 ± 0'2648	47'53	1'8577 ± 0'3205	38'91	1'9590 ± 0'1815	39'43
Glob. tot.	4'7819 ± 0'2708	27'78	5'1532 ± 0'5433	23'78	5'5817 ± 0'3314	25'26
Ccte A/G	0'7330 ± 0'0608	40'77	0'6804 ± 0'0937	31'06	0'6397 ± 0'0557	37'04
	N = 95		N = 22		N = 72	

CUADRO 4  
MEDIA Y COEFICIENTE DE VARIACIÓN DE LAS FRACCIONES DEL PROTEINOGRAMA PARA LOS GRUPOS ME-I (NEGATIVOS), ME-II (SOSPECHOSOS) Y ME-III (POSITIVOS)

FRACCIONES	ME-I		ME-II		ME-III	
	$\bar{X}$ (g.p.100)	CV %	$\bar{X}$ (g.p.100)	CV %	$\bar{X}$ (g.p.100)	CV %
Pr. tot.	8'0987 ± 0'1283	17'78	9'1000 ± 1'1795	15'50	9'0516 ± 0'3959	16'77
Albúmina	3'2203 ± 0'0779	27'17	3'4300 ± 0'6861	23'91	3'3482 ± 0'1740	19'23
Alfa 1	0'4528 ± 0'0142	35'17	0'5812 ± 0'0915	18'83	0'5238 ± 0'0530	37'45
Alfa 2	0'7583 ± 0'0267	39'55	0'9875 ± 0'2130	25'81	0'7404 ± 0'0575	28'73
Beta 1	0'9100 ± 0'0255	31'54	1'0388 ± 0'2101	24'19	0'9713 ± 0'0703	26'78
Beta 2	1'0051 ± 0'0284	31'75	1'2763 ± 0'2964	27'78	1'4493 ± 0'1577	40'27
Gamma	1'7386 ± 0'0737	47'61	1'7738 ± 0'5435	36'65	2'0065 ± 0'1890	34'86
Glob. tot.	4'8511 ± 0'1184	27'41	5'6575 ± 1'1593	24'51	5'6915 ± 0'3695	24'02
Ccte A/G	0'7184 ± 0'0247	38'74	0'6500 ± 0'2010	36'99	0'6456 ± 0'6694	38'96
	N = 126		N = 8		N = 55	

CUADRO 5  
 MEDIA Y COEFICIENTE DE VARIACIÓN DE LAS FRACCIONES DEL PROTEINOGRAMA  
 PARA LOS GRUPOS RFC-I (NEGATIVOS) Y RFC-II (POSITIVOS)

FRACCIONES	RFC-I		RFC-II	
	$\bar{X}$ (g.p.100)	CV %	$\bar{X}$ (g.p.100)	CV %
Pr. tot.	8'1024 ± 0'2860	17'55	8'7390 ± 0'3109	17'60
Albúmina	3'1231 ± 0'1696	37'01	3'4113 ± 0'1532	22'22
Alfa 1	0'4496 ± 0'0342	37'88	0'5086 ± 0'0347	33'75
Alfa 2	0'7900 ± 0'0654	41'17	0'7353 ± 0'0446	30'09
Beta 1	0'9338 ± 0'0581	30'93	0'9328 ± 0'0549	29'09
Beta 2	0'9878 ± 0'0659	33'19	1'3055 ± 0'1049	39'73
Gamma	1'8036 ± 0'1777	48'99	1'8327 ± 0'1010	37'83
Glob. tot.	4'9665 ± 0'2817	28'32	5'3150 ± 0'2778	25'85
Ccte A/G	0'6900 ± 0'0553	39'84	0'6929 ± 0'0539	38'51
	N = 95		N = 94	

CUADRO 6  
 VALORES F DEL ANÁLISIS DE VARIANZA  
 ENTRE LOS GRUPOS CUALITATIVOS (I, II  
 Y III) PARA LAS PRUEBAS DE  
 SEROAGLUTINACIÓN LENTA (SAL) Y  
 2-MERCAPTOETANOL (ME)

FRACCIONES	SAL	ME
Pr. tot.	7'29**	9'07**
Albúmina	0'37	0'63
Alfa 1	5'16**	4'81**
Alfa 2	0'88	2'81
Beta 1	0'18	1'50
Beta 2	19'41**	21'97**
Gamma	2'18	2'20
Glob. tot.	7'08**	8'01**
Ccte A/G	2'46	1'89

grama que sufren variaciones según el estado infeccioso del animal. Así, RIBEIRO et al. (1958), BONOMO et al. (1967), FRATTINI et al. (1969) y GRASS (1967) obtienen una elevación de la gamma globulina acompañada o no de la beta globulina, siendo la beta-1 para RIBEIRO et al (1958) la fracción que aparece más aumentada. Nuestros resultados, no obstante, están de acuerdo con los obtenidos por FRATTINI et al. (1969) para quien es beta-2 la fracción más destacada en los procesos infecciosos, mientras que alfa-2 y beta-1 mantienen sus valores; no así en lo que respecta a la fracción alfa-1 que, permaneciendo sin alteración para este autor, nosotros la encontramos aumentada.

En el análisis de datos centrados (figuras 4-6) vemos que los individuos no siguen, en una representación espacial por medio de sus nueve

CUADRO 7  
 PRUEBA T DE TUKEY ENTRE LOS  
 GRUPOS CUALITATIVOS, PARA LAS  
 FRACCIONES DEL PROTEINOGRAMA  
 CON DIFERENCIA SIGNIFICATIVA, Y EN  
 LAS PRUEBAS DE SEROAGLUTINACIÓN  
 LENTA (SAL) Y MERCAPTOETANOL (ME)

GRUPOS	SAL		
	I-II	I-III	II-III
Pr. tot.	1'3623	3'8084***	1'1196
Alfa 1	0'8690	3'2144**	1'2178
Beta 2	1'7347	6'2318***	2'3124*
Glob. tot.	1'1538	3'7635***	1'2933
GRUPOS	ME		
	I-II	I-III	II-III
Pr. tot.	1'8821	4'0407***	0'0877
Alfa 1	2'0651*	2'5762*	0'8895
Beta 2	1.7776	6'5679***	1'0925
Glob. tot.	1'6336	3'8410***	0'0664

variables, una agrupación clara conforme a estados negativos, sospechosos o positivos establecidos en cada prueba serológica. Se trata de una distribución aleatoria de los mismos aunque los dos primeros ejes absorben de por sí (79'2 + 16'1) más del 95'0% de la variabilidad, por lo que deducimos en principio que no existe una agrupación de individuos según el título y en relación con las cuatro variables con diferencia significativa escogidas para su representación.

Los resultados del análisis discriminante lle-

CUADRO 8  
**PRUEBA T DE STUDENT ENTRE LOS  
 GRUPOS CUALITATIVOS, PARA TODAS  
 LAS FRACCIONES DEL PROTEINOGRAMA  
 EN LA REACCIÓN DE FIJACIÓN DEL  
 COMPLEMENTO (RFC)**

FRACCIONES	I - II
Pr. tot.	2'9532**
Albúmina	2'4714*
Alfa 1	2'3735*
Alfa 2	1'3535
Beta 1	0'0251
Beta 2	5'0281***
Gamma	0'2518
Glob. tot.	1'8256
Ccte A/G	0'0728

vado a cabo entre los proteinogramas de los sueros, y sus resultados serológicos para cada una de las tres pruebas realizadas, arrojan en cada uno de los grupos formados, unos bajos porcentajes de individuos que permanecen en el grupo esperado conforme al estado de negativo, sospechoso y positivo en cada una de las reacciones serológicas. Y al mismo tiempo, unos porcentajes muy elevados de individuos que se trasladan a otro de los grupos que, constituidos a partir de aquellas variables con diferencia significativa, también dividen a la población en negativos, sospechosos y positivos aunque de una forma no real.

Por todo lo anterior, deducimos que estas variables no son lo suficientemente discriminadoras o, en una palabra, no podemos para este lote de individuos y en nuestras condiciones experimentales, predecir a partir del resultado de la electroforesis si un individuo padece o no infección brucelar.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLAN, G. S., R. J. CHAPPEL, P. WILLANSON y D. J. Mc. NAUGHT (1976): A quantitative comparison of the sensitivity of serological tests for bovine brucellosis to different antibody classes. *J. Hyg. Camb.* 76: 287-298.

ALTON, G. G., L. M. JONES y D. E. PIEZT (1976): Las técnicas de laboratorio en la brucelosis. *O.M.S.* 2.<sup>a</sup> Ed. Ginebra.

ALTON, G. G., B. A. ROGERSON y G. G. Mc. PHERSON (1975): The serological diagnosis of bovine brucellosis; an evaluation of the complement fixation, serum agglutination and Rose Bengal tests. *Austr. Vet. J.* 51-57.

BLANCO LOIZELIER, A. (1978): Patogenia de la infección clamidial crónica. *Hygia Pecoris*, 1: 53-69.

BONOMO, L., V. LISO y F. TEDESCO (1967): Studio immunológico e protidologico della brucellosi. *Gior-*

*nale di Malattie Infettive e Parassitarie*. Estratto del N. 11.

BRINLEY MORGAN, W. J. (1967): El diagnóstico serológico de la brucelosis bovina. *Vet. Record*, 80, 21.

CHAPPEL, R. J., D. J. Mc. NAUGHT, J. A. BOURKE y G. S. ALLAN (1978): The diagnostic efficiency of some serological tests for bovine brucellosis. *J. Hyg. Camb.* 80, 373.

CLARKE, N. (1977): Development and evaluation of serological tests. R. P. CRAWFORD y R. J. HIDALGO (Eds.). *Bovine Brucellosis*. An International Symposium. Texas A and M. University Press, College Station, Texas, 79-82.

CUELLO, F. (1979): Contribución al estudio de la clamidiasis ovina en la provincia de Córdoba. Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba. Facultad de Veterinaria.

ELBERG, S. S. (1973): Immunity to Brucella infection. *Medicine*, Baltimore, 52, 339.

FRATTINI, J. F., V. C. F. CEDRO y A. A. BERNARDELLI (1969): Electroforesis en brucelosis. Infección experimental en conejos. *Rev. Invs. Agrop. INTA*. Ser. 4, Pat. an., VI, 9.

GARATEA, P.; R. DÍAZ y A. SÁNCHEZ FRANCO (1981): Estudio sobre la presencia de anticuerpos frente al polisacárido B del Género Brucella en sueros de bovinos. *Laboratorio* (Granada), 71, 422: 105-120.

GARRIDO, A. y S. MIRANDA (1974): Investigación de inmunoglobulinas en brucelosis bovina. *Arch. Zootec.* 23: 289-298.

GRAS, J. (1967): Proteínas plasmáticas. Fisiología, metabolismo y fisiopatología de las proteínas extracelulares. 3.<sup>a</sup> Ed. Jims. Barcelona.

HERR, S.; M. C. M. GUINEY y L. A. TE BRUGGE (1982): The value of the micro titer serum agglutination test as a 2nd screening test in bovine brucellosis. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 49: 23-28.

KAEBERLE, M. L. (1973): Immune response to antigens of inactivates microbial agents. *J. Am Med. Ass.* 173: 810-815.

LAMBERT, G. y T. E. AMERAULT (1962): Comparative study of three serological tests for detecting the response in cattle to virulent. *B. abortus*. *Am. J. Vet. Res.* 23: 529-533.

PAGE, L. A.; J. M. PATTERSON; M. H. ROEPKE, y F. O. GLASER (1967): Studies on the biophysical characteristics of antibodies produced in birds and mammals in response to experimental chlamydial infection (psittacosis). *J. Immunol.* 98: 732-738.

PATTERSON, J. M.; B. L. DEYOE y S. S. STONE (1975): Identification of immunoglobuline associated with complement fixation, agglutination and low pH buffered antigen test for brucellosis. *Am. J. Vet. Res.* 37: 319-324.

RIBEIRO, L.; E. MITIDIERI y O. AFFONSO (1958): Electroforesis en papel o métodos relacionados. Serv. Gráf. de I.B.G.O. (citado por FRATTINI y col. 1969).

RICCIARDI, R.; B. FERLAZZO y A. BARRILE (1976): Sul comportamento delle immunoglobuline sieriche nella brucellosi. *Ann. Solave*, vol. 18.

ROUX, J. (1978): La sérologie de la brucellose. *Med. Hyg.* 36: 453-456.

VALETTE, L. (1974): Diagnostic sérologique des brucelloses en médecines humaine et animale. *Med. Vet. Québec*. Sep. 1974.

YANTZIS, D. (1981): Adaptation of the Rose Bengal test for the diagnostic of brucellosis. *Delt. Hekll.* 32 (4).

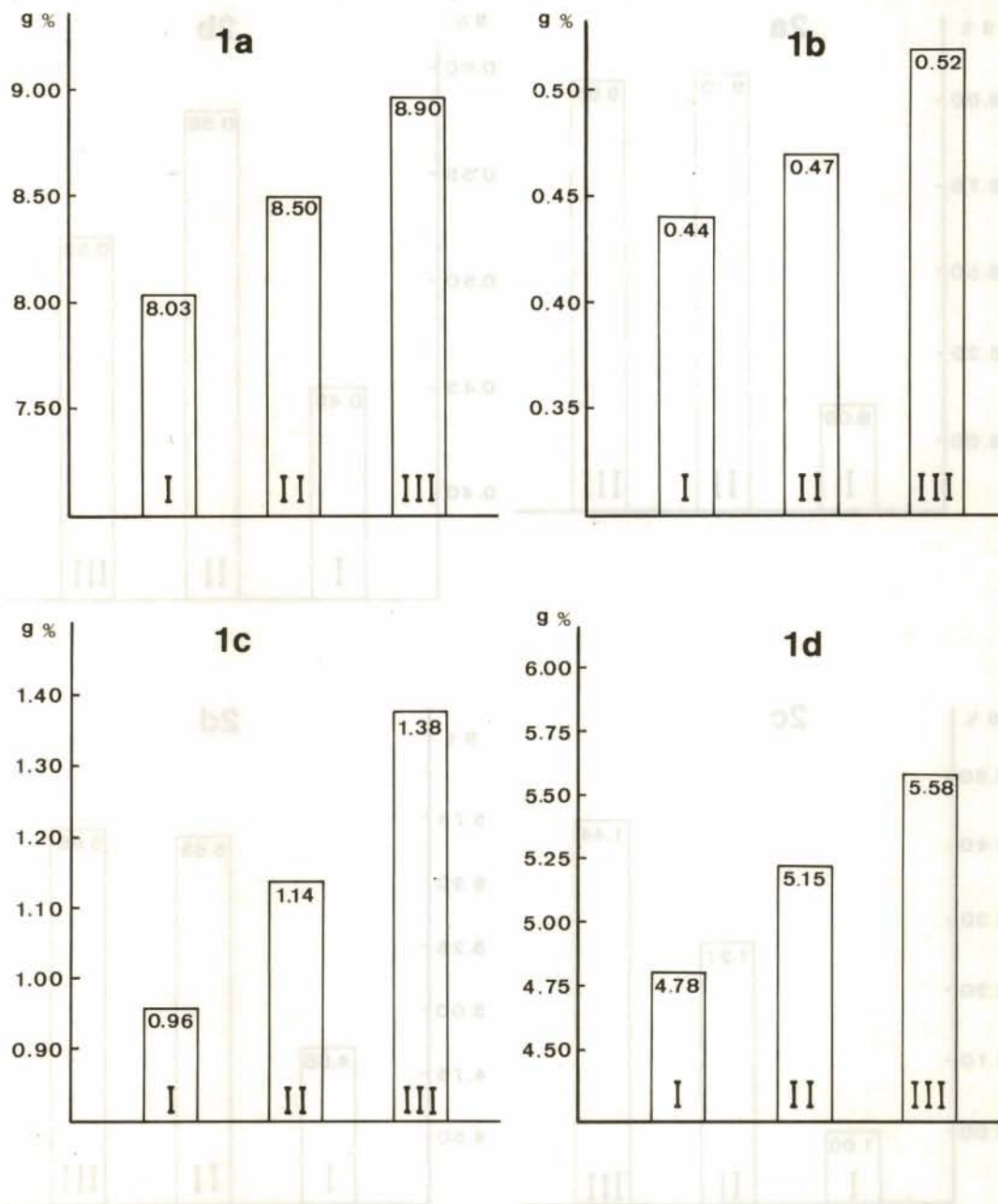


FIGURA 1. Diagramas de los valores medios de las fracciones que presentan variación significativa entre los grupos cualitativos establecidos según la seroaglutinación lenta (SAL I, II y III).

- 1a: Valores medios de proteínas totales (\*\*).
- 1b: Valores medios de alfa-1 globulina (\*\*).
- 1c: Valores medios de beta-2 globulina (\*\*).
- 1d: Valores medios de globulinas totales (\*\*).

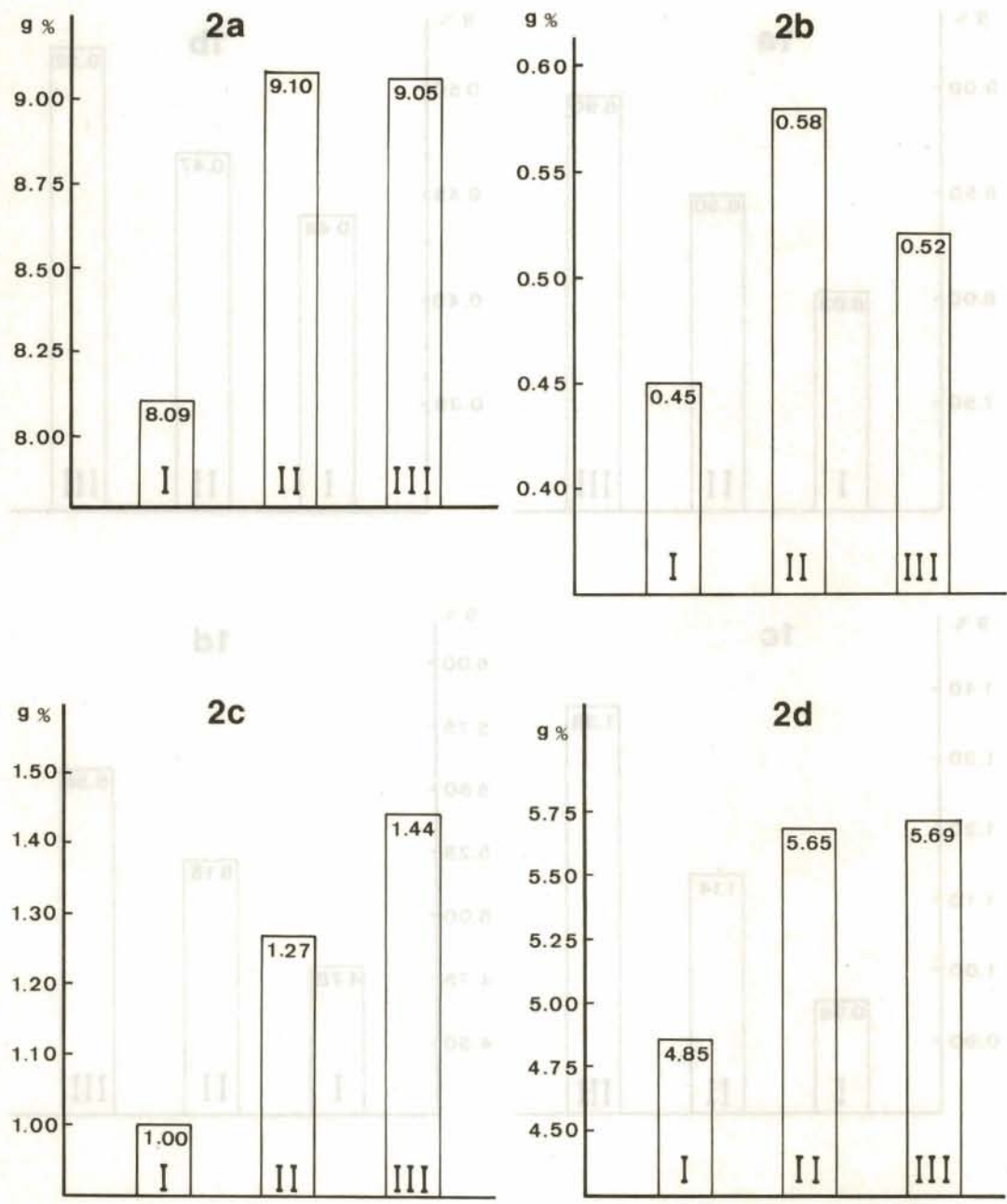


FIGURA 2. Diagramas de los valores medios de las fracciones que presentan variación significativa entre los grupos cualitativos establecidos según la seroaglutinación con 2-mercaptoetanol (ME I, II y III).  
 2a: Valores medios de proteínas totales (\*\*).  
 2b: Valores medios de alfa-1 globulina (\*\*).  
 2c: Valores medios de beta-2 globulina (\*\*).  
 2d: Valores medios de globulinas totales (\*\*).



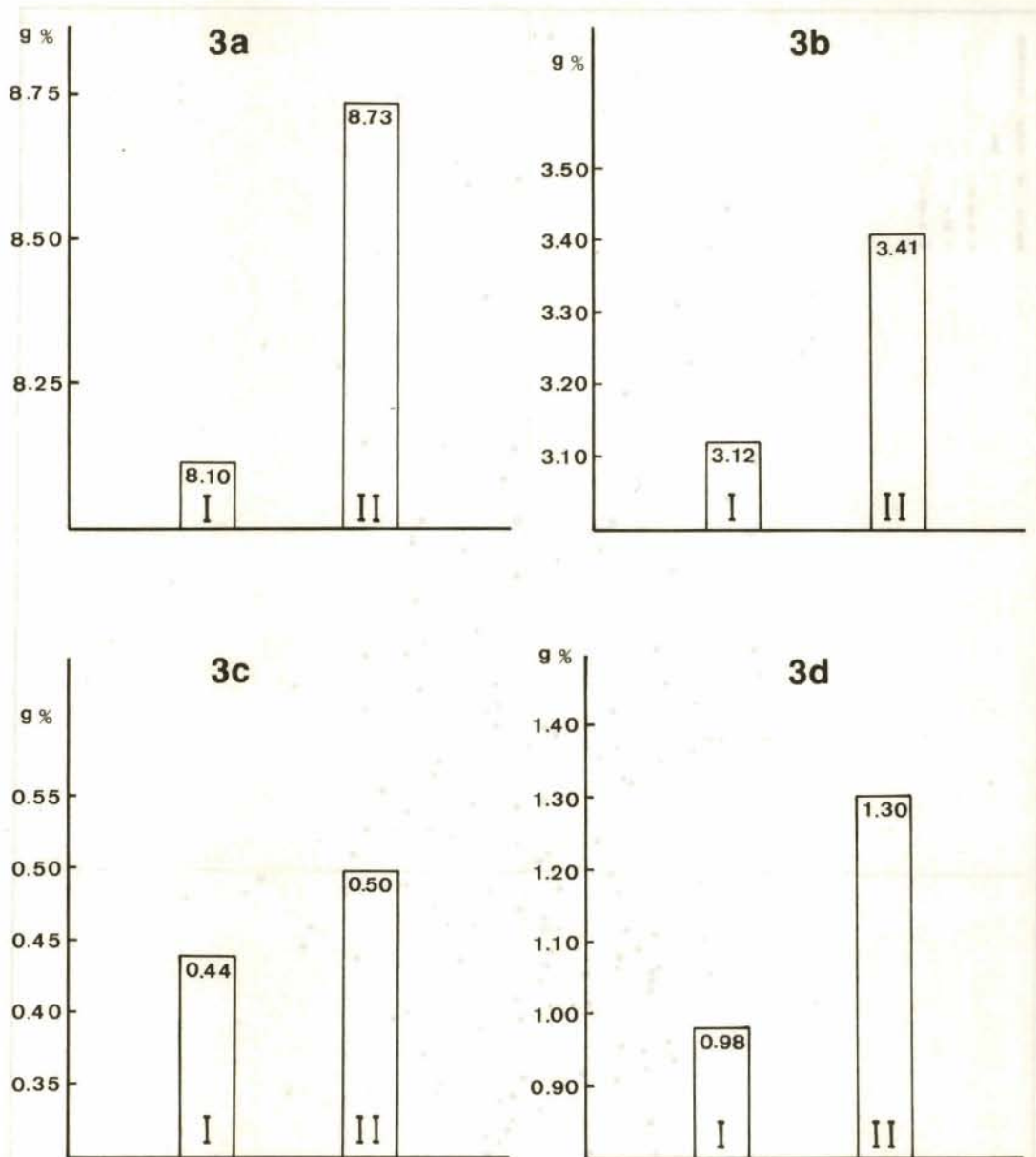


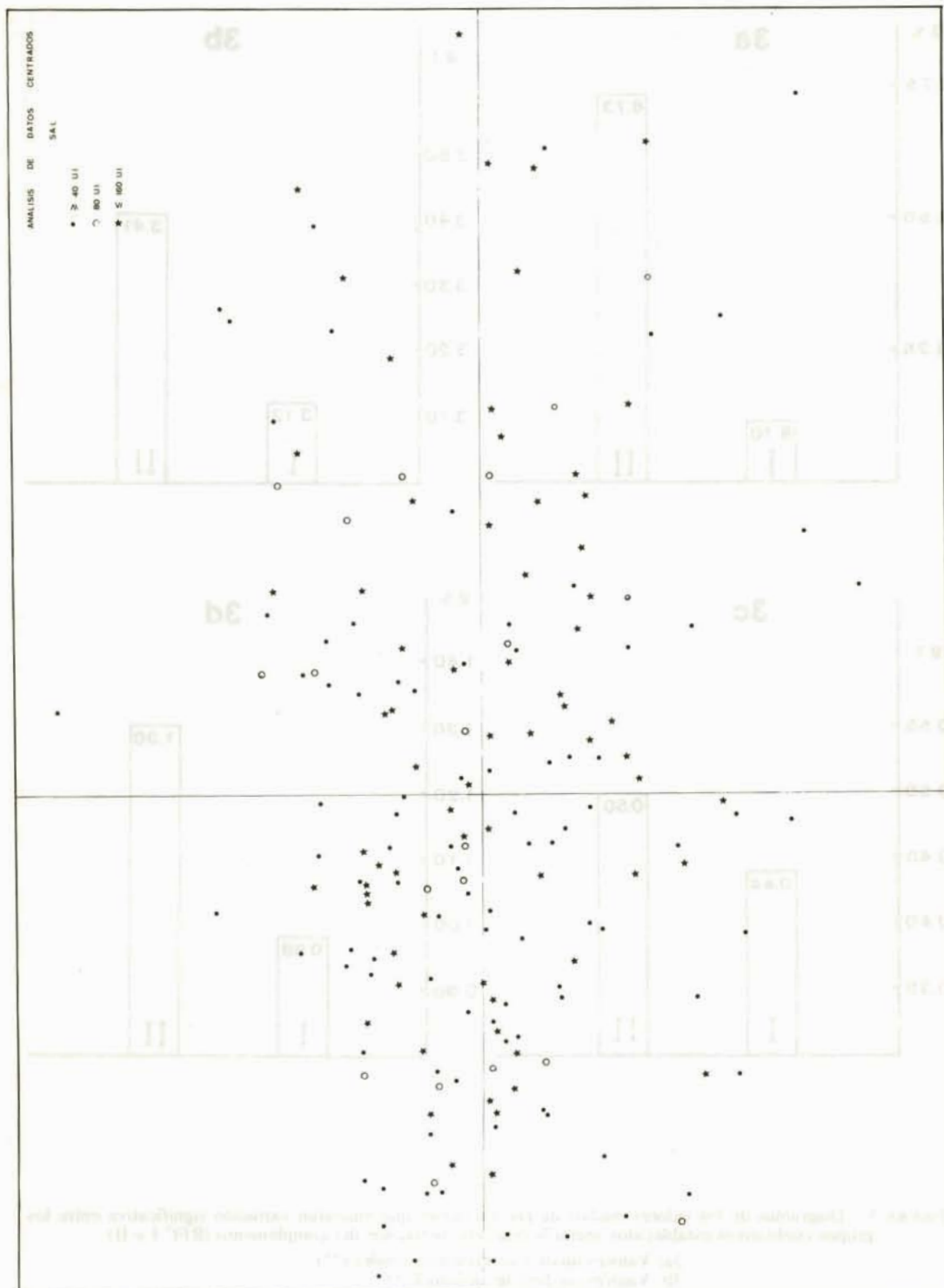
FIGURA 3. Diagramas de los valores medios de las fracciones que muestran variación significativa entre los grupos cualitativos establecidos según la reacción de fijación del complemento (RFC I y II).

3a: Valores medios de proteínas totales (\*\*).

3b: Valores medios de albúmina (\*).

3c: Valores medios de alfa-1 globulina (\*).

3d: Valores medios de beta-2 globulina (\*\*\*)



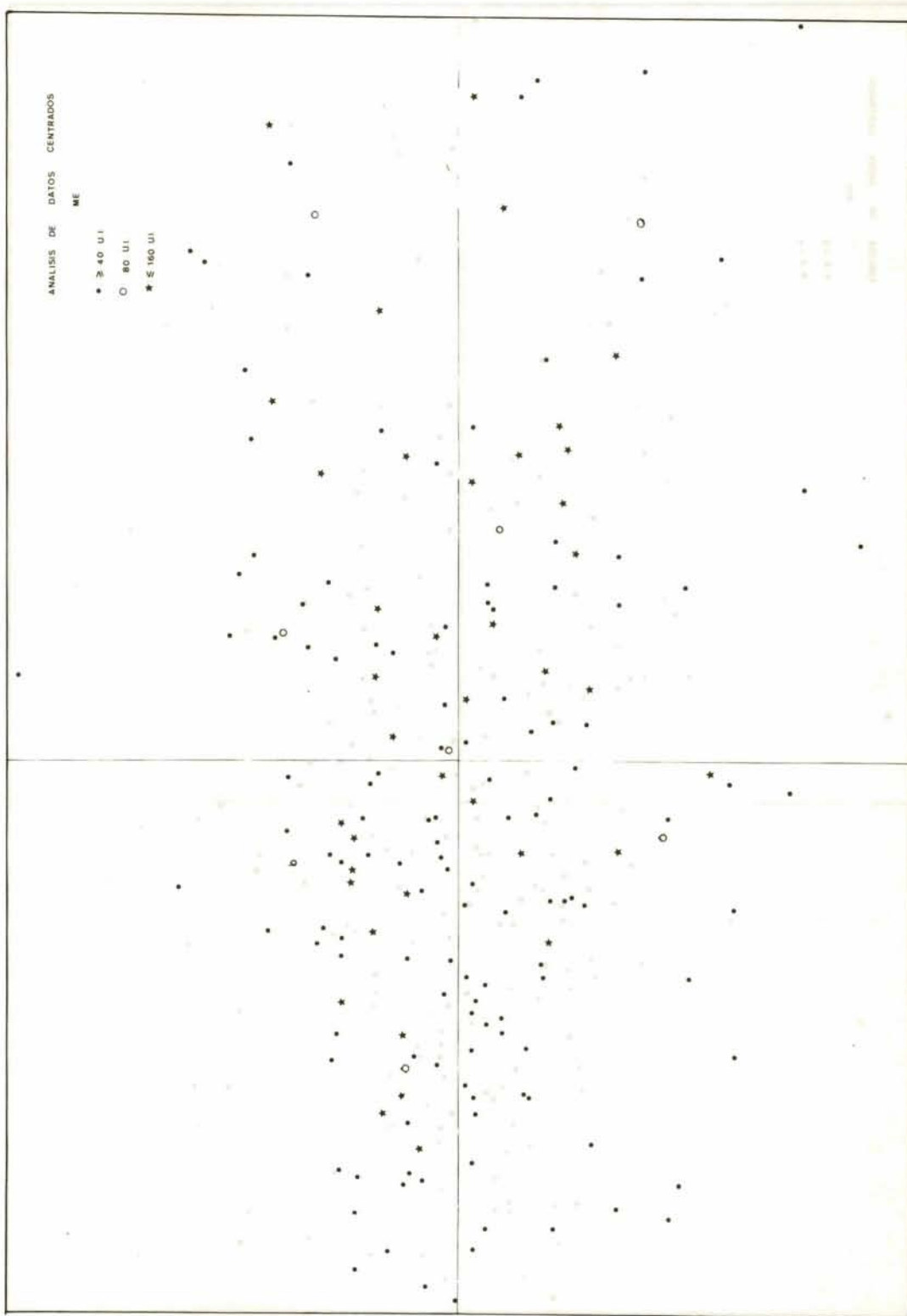


FIGURA 5. Análisis de datos centrados según los resultados de la aglutinación con 2-mercaptoetanol (ME).

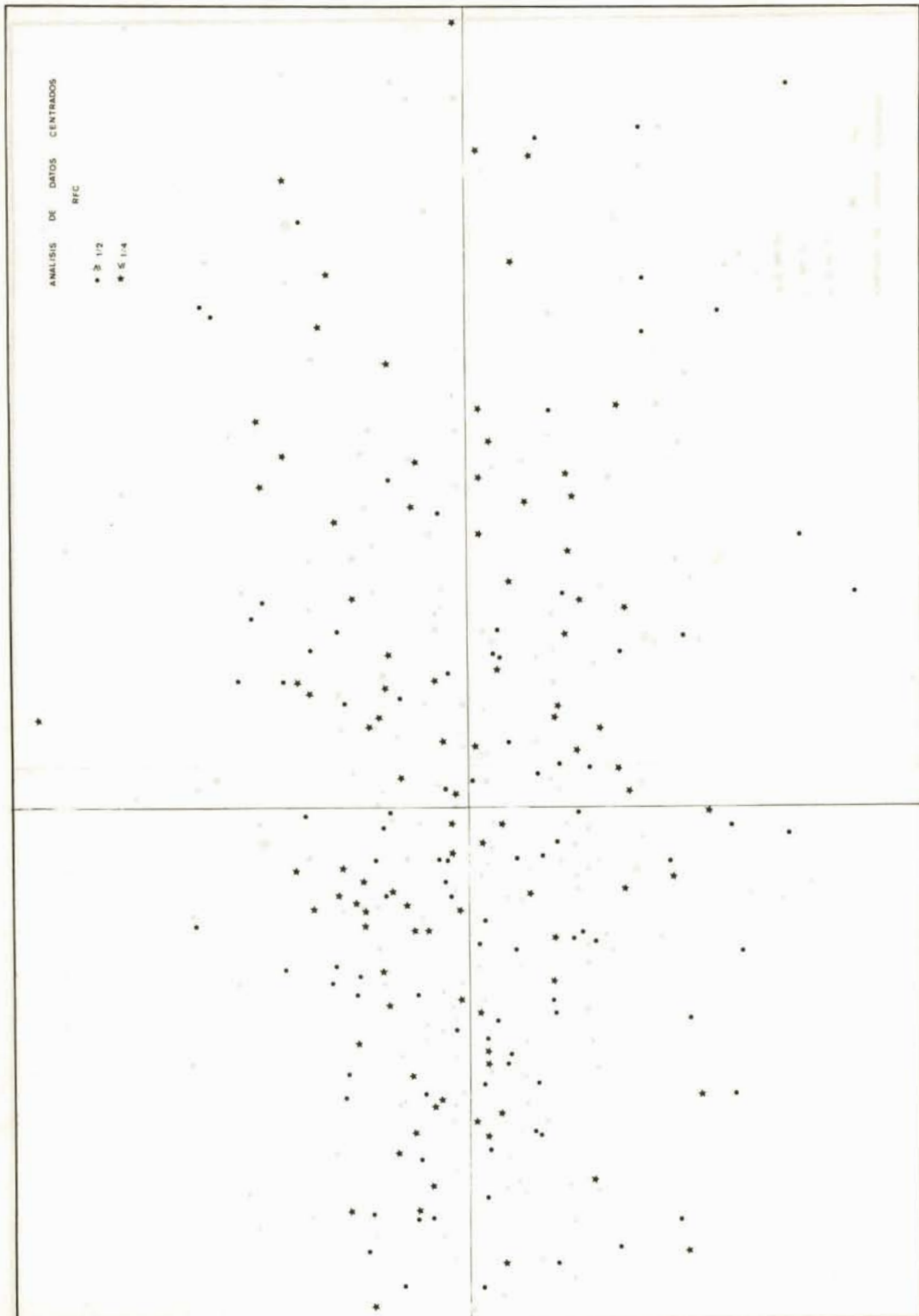


FIGURA 6. Análisis de datos centrados según los resultados de la reacción de fijación del complemento (RFC).