

CARACTERIZACION PROTEICA DEL SUERO DEL AVE CORAGYPS ATRATUS (ZAMURO DE CABEZA NEGRA) Y ALGUNOS ESTUDIOS INMUNOSEROLOGICOS

Proteinical characterization of *Coragyps atratus* aviar sera
(the black head carrion vulture) and some immunoserologics determination

Diana C. Ocando Ocando*

Sergio E. Rivera Pirela**

Eduardo Ajjam*

Rodolfo Salas Auvert*

* Facultad Experimental de Ciencias

** Facultad de Ciencias Veterinarias

Universidad del Zulia

Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela

Palabras claves: Zamuro, patrones biológicos, patrones proteicos, inmunización

Key words: Zamuro, biological standard, protein standard, immunization

RESUMEN

El zamuro sobrevive al constante ataque infeccioso dado por su alimentación. Determinaciones biológicas en esta especie son escasas. Se caracterizó el contenido proteico sérico y se realizó el serodiagnóstico para determinar anticuerpos contra agentes patógenos de interés médico, veterinario y epidemiológico. La concentración de Proteínas Totales (PT) se determinó por refractometría. En la obtención del patrón proteico se utilizó la técnica de EPAC. Los electroforegramas se obtuvieron por densimetría. Se utilizó pruebas de aglutinación en placa, *M. gallisepticum*, *S. pullorum* y *B. abortus*. Inhibición de la hemoaglutinación, enfermedad de New Castle (EN) y hemoaglutinación indirecta, *T. gondii*. El nivel de PT fue 4.8 ± 0.9 g/dL. $n=35$, valor superior al reportado por Coleman, 1988, $n=45$, 4.2 ± 0.07 g/dL. El patrón general consta de 4 bandas, ALB, G α 2, G β y G γ con elevación de α 2. La G.1 está ausente. Alta positividad, $n=45$, se observó para micoplasma, 71.1% (32%, 1:10) y toxoplasma, 66.7%. En salmonella y brucella se obtuvo el 2.2%. Para EN no se observaron anticuerpos. En ensayos de inmunización activa con la vacuna de EN se evidenció la producción de anticuerpos. La alta concentración de α 2 representaría aumento de proteínas específicas asociadas a infecciones agudas y patologías en otros animales y el hombre. Los componentes C₃ y C₄ del complemento podrían intervenir en el incremento de α 2. La prevalencia de reactivaciones en la naturaleza y la demostración de anticuerpos posterior a la inmunización sugieren que la acción de la respuesta humoral depende de la victoria del antígeno sobre las barreras anatómicas. La protección contra infecciones en esta ave estaría vinculada con la primera línea de defensa, las mencionadas barreras, el complemento y la IgA secretoria. Estudios de epidemiología permitirían establecer el carácter transmisor de toxoplasmosis y micoplasmosis por parte del zamuro.

ABSTRACT

*The black head carrion vulture survives to the permanent infections attack given by it's meals. Biological determinations in this specie are limited and small. The serum protein content was characterized and the serodiagnostic was made to determine antibodies against pathogenic agent of medical, veterinarian, and epidemiological interest. The concentration of total proteins (TP) was determined by refractometry. In the obtainment of the protein standard the EPAC technique was used. The electroforegrams were obtained by densimetry. Agglutination tests in plaque were used, *M. gallisepticum*, *S. pullorum* and *B. abortus*, Inhibition of the hemoagglutination, Newcastle disease (ND) and indirect hemoagglutination, *T. gondii*. The level of TP was 4.8 ± 0.9 g/dl. $n=35$, superior amount to the one reported by Coleman, 1988, $n=45$, 4.2 ± 0.07 g/dl. The general standard was composed by 4 "Stripes", ALB G α 2, G β and G γ with elevation of α 2. The G.1. is absent. High positiveness, $n=45$, was observed for micoplasma, 71,1% (32%, 1:10) and toxoplasma, 66.7%. In salmonella and brucella the 2.2% was obtained. For ND no antibody were observed. In examination tests of active immunization with the ND vaccine the production of antibody was made evident. The high concentration of the α 2 would represent increase of especific proteins associated to acute infections and pathologies in other animals and man. The components C₃ and C₄ of the complement coul regulation mediate in the increases of α 2. The prévalency of reactivations in nature and the demonstrations of antibody, after the immunization sugest that the action of the body fluid answer depends on the victory of the antigen over the anatomical barriers. The protection against infections in this bird would be entailed with the first line of defense, the mentioned barriers the complement and the secretory IgA Epidemiology studies would allow to establish the spreading nature of toxoplasmosis and micoplasmosis by the black head carrion vulture.*

INTRODUCCION

El ave silvestre *Coragyps atratus*, zamuro de cabeza negra, es un ave carroñera incluida en la Familia Cathartidae, Suborden Catharte y Orden Falconiformes.

Se caracteriza por alimentarse de carroña, en general de tejido animal en descomposición.

Coragyps atratus se extiende por toda América, se constituye como el ave carroñera más común de América del Sur.

La carroña es un reservorio considerable de microorganismos de carácter patógeno y saprofito, que comprometería la integridad y salud de otros animales con hábitos alimentarios similares, incluyendo al hombre^[6].

El zamuro al alimentarse está expuesto a una agresión biológica constante, frente a la cual es capaz de defenderse, dada la fuerte estabilidad de la especie, así como la longevidad individual. Sin embargo es de hacer notar la escasez de literatura disponible a nivel nacional e internacional, acerca de los caracteres naturales y biológicos de esta especie, así como de su efectividad en la defensa contra infecciones.

Tomando en consideración la escasez de datos publicados en relación a estas aves, los trabajos relacionados con estudios sobre éstas, en torno a su comportamiento, migración y fundamentalmente biología, serán de relevancia para la ciencia zoológica y biológica en general.

Los estudios sobre *Coragyps atratus* refieren aspectos relacionados con sus hábitats, alimentación, observaciones del comportamiento en cautiverio, datos anatomohistológicos, patrón de marcaje con fines de identificación taxonómica, asociaciones en familia, nidaje, comportamiento y crecimiento, regulación de la temperatura, aerodinámica del vuelo, migración y biología del cruzamiento^[2, 3, 9, 10, 13].

Estudios fisiológicos en el zamuro, han sido reportados sobre aspectos bioquímicos y patológicos^[2, 3, 12].

La información más limitada sobre *Coragyps atratus*, es precisamente la relacionada con aspectos inmunológicos, microbiológicos y sanguíneos en general. Entre éstos es interesante resaltar estudios de determinación de concentración proteica sérica así como la confirmación de la producción de anticuerpos antitoxina de *Clostridium botulinum* y una particular actividad neutralizadora de su acción tóxica^[4, 12].

Los resultados obtenidos en la realización de esta investigación además de proveer noveles conocimientos sobre la biología de estas aves, permitirán a su vez el establecimiento de bases serológicas y posiblemente inmunológicas de carácter particular así como de su biología como un ser vivo especial y excepcional.

MATERIALES Y METODOS

Trabajo con el ave para su estudio y obtención de muestras de sangre

La colecta de las aves se efectuó en las instalaciones

del centro de animales beneficiados, "Frigorífico Industrial Bolívar", ubicado en el Distrito Santa Rita del Estado Zulia.

La colecta se realizó a través del uso de una red. Las aves fueron inmovilizadas con el plegamiento doble de las alas, una sobre otra, al dorso del animal, observando el debido cuidado de no dislocar el miembro. Las patas y picos, fueron inmovilizados mediante el uso de cinta adhesiva, con la prevención de no obturar los orificios nasales.

Se realizaron en los meses de mayo-septiembre y noviembre del año 89 y de enero a abril del año 90, obteniéndose un total de 45 animales. Se tomó este número como muestra representativa de la población de estudio, estimación basada en la revisión de la literatura en las que se reportan estudios realizados en esta especie, con un número de muestras igual a 45.

Fueron sujetos a estudios morfométricos, determinándose el peso y medidas corporales; longitud total, longitud de ala, longitud de cola, longitud de pico; longitud del tarso y envergadura alar. Se realizaron observaciones de las características físicas del espécimen, a fin de inferir si se trata de un joven o de un adulto; mediante la observación del plumaje que cubre la cabeza, el cual desaparece paulatinamente con la edad^[9]. La recolección de estos datos reviste gran importancia para la determinación biológica en esta especie.

Fueron aceptados como jóvenes, aquellos en los que el plumaje cubría la mayor parte de la cabeza, así como también, por la observación eventual de plumones. Se aceptaron igualmente como adultos, aquellos que presentaron la cabeza desprovista de plumas hasta la parte baja del cuello, y prominente corrugaciones en la piel desnuda. Se aceptó así mismo un grupo de caracteres intermedios conocidos en la literatura como subadultos^[9, 10], que presentaron la cabeza descubierta hasta la zona medial craneal y de superficie lisa.

Las aves fueron mantenidas en cautiverio, en una jaula de medidas 2 x 3 x 2 m., para no más de 10 especímenes, ampliamente ventiladas y mantenidas a la intemperie. La misma estuvo dotada de un techo constituido por una malla de alambre y cierta cobertura para proporcionar sombra.

La alimentación se basó en desechos de tejido animal en descomposición, básicamente vísceras bovinas, obtenidas en el mismo sitio de captura. El agua fue provista constantemente con acceso ad libitum.

Para la obtención de muestras de sangre se utilizó la vena basilica, en su ubicación anatómica sobre la articulación radio cubital, punto de su recorrido en el que aumenta su calibre, haciéndose tanto visible como accesible para la punción.

El área de punción fue descubierta y desinfectada con alcohol isopropílico al 70% (v/v). Se utilizó un equipo de venoclisis pericraneal, con agujas calibre 23XG y jeringas de 12 cc.

Se tomaron de 6 a 10 cc de sangre sin anticoagulante, que fueron almacenados en tubos de ensayo de recolección sanguínea (16 x 100 mm) y distribuidos en volúmenes de 2 cc por tubo.

A fin de acelerar el proceso de coagulación, las muestras de sangre fueron colocadas en estufas a una temperatura de $40^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ (temperatura corpórea de las aves).

Una vez separado el suero, las muestras fueron sometidas a centrifugación a 2.500 - 3.000 rpm por 10 a 15 minutos.

El suero fue extraído con pipetas pasteur y distribuido en alícuotas de 1 cc, en tubos de ensayo (14 x 65 mm) los cuales fueron rotulados con papel para film. Las muestras fueron almacenadas hasta su uso, en congelación a -70°C .

Estudio de caracterización y diagnóstico serológico

Determinación de la concentración de proteínas séricas:

Para la determinación de la concentración proteica o proteínas totales en suero, se siguió la técnica de Medway y col. (1973). La técnica consistió en el uso de un refractómetro (TS meter número 10400, American Optical Co. Buffalo Nueva York).

Determinación del patrón proteico:

Se realizó la técnica electroforética en placas de acetato de celulosa (EPAC), inicialmente descrita por Kohm J. (1957). Es un método considerablemente práctico, reproducible, rápido y adaptable.

Serodiagnóstico. Ensayo de la presencia de anticuerpos específicos contra antígeno viral, bacteriano y parasitario mediante pruebas de aglutinación:

Se ensayaron los antígenos bacterianos *Mycoplasma gallisepticum*, *Salmonella pullorum* y *Brucella abortus*, causante de la micoplasmosis, salmonelosis y brucelosis respectivamente, enfermedades, que aquejan a aves domésticas, siendo la última más frecuente en ganado vacuno. Igualmente se ensayaron, el antígeno viral de la enfermedad de Newcastle infectante potencial de aves silvestres y domésticas, y el antígeno parasitario *Toxoplasma gondii*.

Se utilizaron pruebas de aglutinación específicas en cada caso. Las técnicas de aglutinación directa son conocidas como reacciones de Widal o Weil-Felix, reportadas a partir de los estudios de Wright y Smith (1897).

Se utilizó la técnica de aglutinación en placa para la determinación de anticuerpos séricos contra *mycoplasma* y *salmonella*. Se tomó como resultado positivo la aglutinación definida que comenzó al minuto y se completó a los dos minutos y negativo, la ausencia de aglutinación al cabo de los 2 minutos.

Para la determinación de *brucella*, se utilizó la valoración semicuantitativa por el método rápido de aglutinación en placa en el aglutinoscopio o caja de Huddelenson. La interpretación se basó en tres clasificaciones: aglutinación completa, grumos grandes; aglutinación incompleta, grumos pequeños y aglutinación negativa, ausencia de aglutinación a los 8 minutos.

Para la determinación de anticuerpos contra el virus de la enfermedad de Newcastle, se utilizó la prueba de inhibición de la hemoaglutinación. Previo a la realización

de la prueba, el antígeno fue titulado, haciéndolo reaccionar con los eritrocitos de pollo en ausencia del suero inmune, observándose en este caso la hemoaglutinación directa. El título del antígeno (más alta dilución en la que se presentó hemoaglutinación visible) correspondió a 1:1280. Esta técnica fue descrita por Brandly y col.⁽¹⁾.

Se tomó como resultado positivo el recíproco de la más alta dilución en la cual hubo inhibición completa de la hemoaglutinación y resultado negativo de la hemoaglutinación sin inhibición en todos los pozos.

Se realizó un ensayo de inmunización para la obtención experimental de anticuerpos anti-Newcastle. Se utilizaron 4 aves con negatividad frente al antígeno de Newcastle, confirmada por la prueba de inhibición de la hemoaglutinación. El esquema de inmunización consistió en dos inoculaciones del antígeno con separación de 7 días y sangrados el día 7 y el día 15. El inmunógeno utilizado estuvo constituido por la cepa La Sota del virus atenuado de la enfermedad de Newcastle, usado en la protección avícola. La inoculación se basó en la aplicación de dos gotas de la vacuna, una vía nasal y otra sobre el ojo.

Se obtuvieron las muestras de sangre a los 7 días de la primera inoculación y se aplicó la segunda dosis. Luego de 7 días se realizó el segundo sangrado.

Las muestras de suero, fueron sometidas a evaluación mediante la prueba de inhibición de la hemoaglutinación, para determinar la presencia detectable de anticuerpos específicos producidos en respuesta a la vacuna.

Para la determinación de anticuerpos contra el antígeno de *Toxoplasma* se utilizó la reacción de la hemoaglutinación indirecta. Se utilizó un kit comercial (Merckotest de *Toxoplasmosis* Art. 15879 - Envase para 288 determinaciones) y placas de microtitulación de fondo en "V". La sensibilidad del kit es de 10 ng/mL. El resultado positivo se evidenció por la hemoaglutinación visible, completa o parcial, con un mínimo punto de eritrocitos en el fondo del pozo y el título la mayor dilución de la muestra que exhibió un resultado francamente positivo y como resultado negativo la ausencia de hemoaglutinación.

RESULTADOS

En la Tabla I se reportan los valores promedio de las medidas morfométricas y el peso de las aves, para la muestra total y para los grupos dados por la distribución por edad aparente. Fueron analizadas las medias para cada parámetro correspondiente a cada grupo con respecto a la muestra total y a los grupos entre sí mediante el estadístico "t" de Student. Se encontró diferencia significativa entre las medias de adultos y jóvenes con respecto a la muestra total para el parámetro longitud del ala, entre la media de adulto en relación a la total para la longitud del pico y entre la media de jóvenes en comparación con la muestra total para la envergadura alar. Para el resto de los parámetros no se encontró diferencia significativa, entre

TABLA I
VALORES PROMEDIO DE LAS MEDIDAS MORFOMETRICAS (EN mm)
Y EL PESO (EN grs.) DE LAS AVES, DISTRIBUIDAS POR EDAD

Grupo de muestra	Longitud total	Longitud ala	Longitud cola	Longitud pico	Longitud tarso	Envergadura	Peso
Jóvenes	585.00	385.00	155.71	58.57	74.07	1271.43	1500.00
	±	±	±	±	±	±	±
n=7	29.30*	8.16	19.88	4.76	6.23	77.55	204.12
Subadultos	603.08	399.23	158.85	60.85	72.31	1323.85	1416.67
	±	±	±	±	±	±	±
n=13	23.32*	10.77	27.85	3.58	6.33	57.09	224.93
Adultos	611.20	411.00	171.67	65.87	72.14	1354.67	1578.33
	±	±	±	±	±	±	±
n=15	9.11*	10.21	19.79	5.13	4.88	38.71	225.37
Muestra Total	602.94	401.43	163.71	62.54	73.03	1326.57	1497.86
	±	±	±	±	±	±	±
n=35	21.77*	13.91	23.56	5.34	5.93	61.69	234.24

* =
 P (α) = 0.05 significativo

ninguno de los grupos con respecto a la muestra total para un intervalo de confianza del 95% y un nivel de significancia del $p = 0.05$ (α).

El resultado de las determinaciones de concentración de proteínas totales en el suero, para la muestra total distribuida por grupos de edad, se reportan en la Tabla II. En el análisis de comparación de media (estadístico "t" de Student, $p = 0.05$), no se encontró diferencia significativa entre ninguno de los grupos con respecto a la muestra total.

La decoloración y clarificación de las placas de acetato de celulosa, mostró un patrón general de cuatro bandas, con variaciones presentadas por algunas muestras.

Se realizó el cálculo de las movilidades relativas (M.R.), de las proteínas séricas obtenidas, representadas por el cociente entre la distancia banda y la distancia total de recorrido. Dicho cálculo se realizó tanto para las fracciones proteicas obtenidas en la separación de las muestras séricas del zamuro, como para las correspon-

TABLA II
CONCENTRACION DE PROTEINAS SERICAS TOTALES EN LA ESPECIE
CORAGYPS ATRATUS, DISTRIBUIDA POR GRUPOS DE EDAD

Grupo de muestra	Jóvenes	Subadultos	Adultos	Total
n	7	13	15	35
conc (g/dL)	4.84 ± 0.47*	4.98 ± 1.10	4.75 ± 1.03	4.80 ± 0.90

* = Desviación estándar
 P (α) = 0.05 no significativo

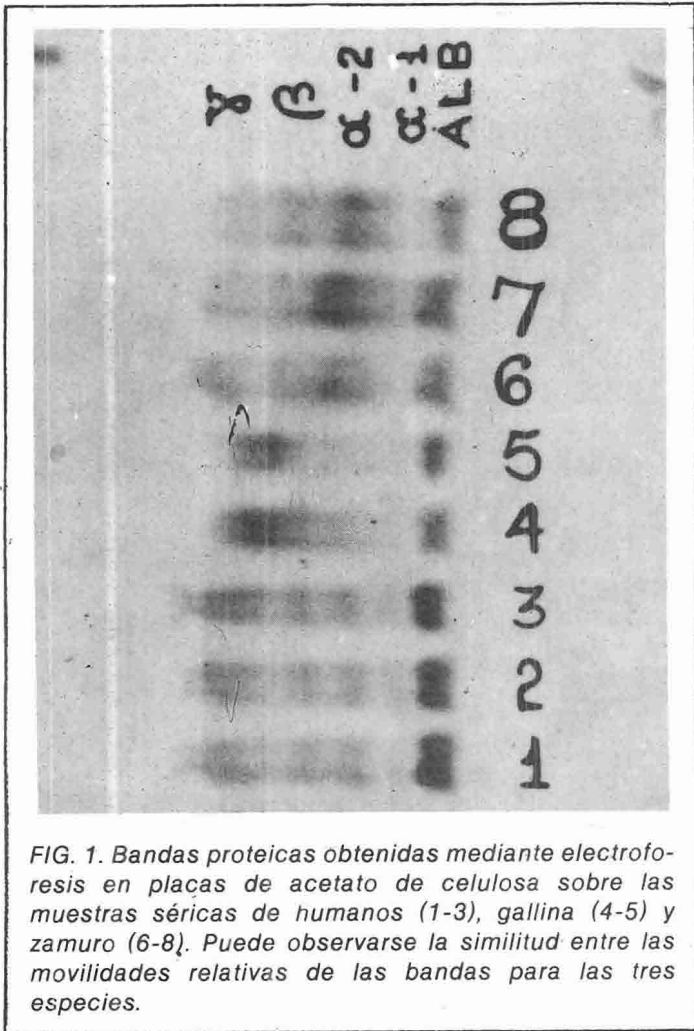


FIG. 1. Bandas proteicas obtenidas mediante electroforesis en placas de acetato de celulosa sobre las muestras séricas de humanos (1-3), gallina (4-5) y zamuro (6-8). Puede observarse la similitud entre las movilidades relativas de las bandas para las tres especies.

3/35 mostró una marcada disminución de la banda albúmina, con la ausencia de la banda beta, con porcentaje de 8.57% dentro de la muestra total.

En la Fig. 2 se presenta la separación electroforética de 7 muestras de zamuro, mostrando el patrón general de cuatro bandas, con la total ausencia de la globulina 1, así como las variaciones dadas por la ausencia de las bandas beta y gamma y la disminución en la concentración de albúmina.

Por su parte la Tabla IV refiere la distribución cualitativa del patrón proteico de fracciones constituyentes presentado por la totalidad de muestras, donde el signo positivo (+) indica la presencia de la banda correspondiente y el signo negativo (—) la ausencia, con los respectivos porcentajes en cada caso.

El análisis por densimetría, permitió obtener la relación cualitativa y cuantitativa de las fracciones proteicas dadas respectivamente por el electroforegrama y por la concentración en g/dL de las proteínas individuales a partir del valor de proteínas totales en g/dL obtenidas por el Refractómetro.

Los electroforegramas más representativos de las

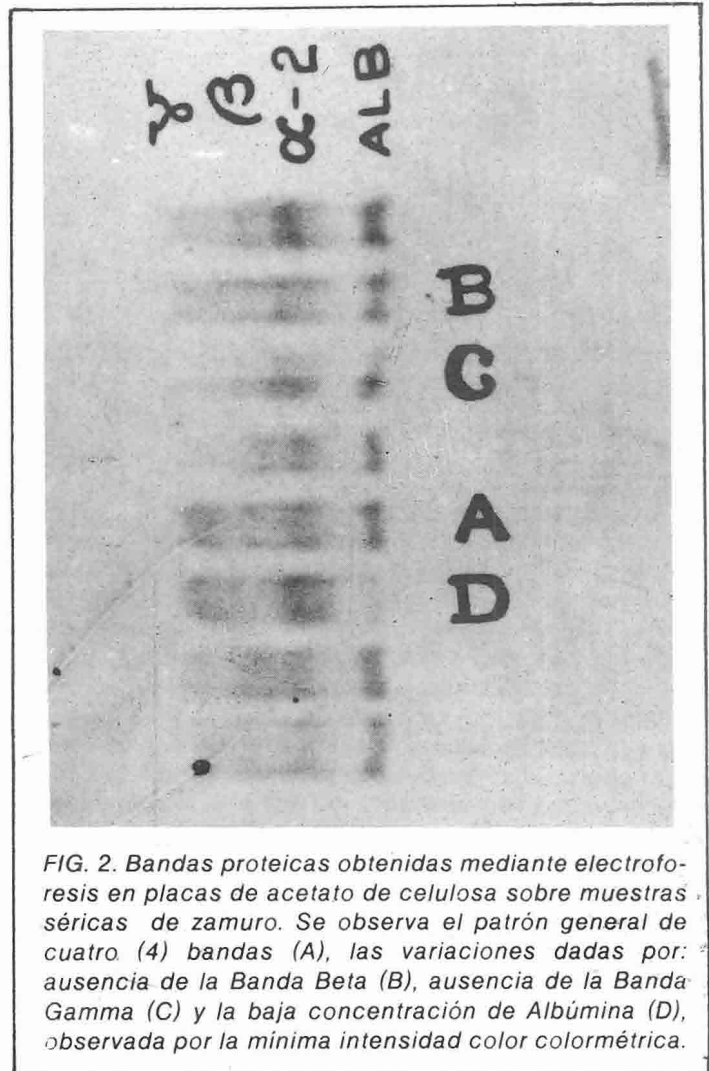


FIG. 2. Bandas proteicas obtenidas mediante electroforesis en placas de acetato de celulosa sobre muestras séricas de zamuro. Se observa el patrón general de cuatro (4) bandas (A), las variaciones dadas por: ausencia de la Banda Beta (B), ausencia de la Banda Gamma (C) y la baja concentración de Albúmina (D), observada por la mínima intensidad color colormétrica.

dientes fracciones resultantes en muestras séricas de origen humano y de gallina.

Las bandas proteicas obtenidas de las separaciones electroforéticas, de las tres especies mencionadas mostraron movilidades relativas similares, Fig. 1.

La comparación de los valores numéricos de las movilidades relativas de las proteínas séricas en humano y en gallinas, con sus correspondientes en el zamuro, permitieron la determinación y denominación de las fracciones individuales en este último, Tabla III.

Se determinó la presencia de albúmina y 3 fracciones globulínicas, a saber, Globulina Alfa, Globulina Beta y Globulina Gamma. La característica principal es la presencia de una sola proteína con movilidad Alfa (α), la cual según el valor numérico de su M.R. estaría representando a la Globulina ALFA 2 (α 2), y de esta manera fue considerada para aspectos de la discusión.

Las variaciones presentadas por algunos especímenes estuvieron constituidas por la ausencia total o parcial de una de sus bandas. La ausencia de la banda Beta se evidenció en 10/35 de las muestras representando el 28.57%. De la misma forma la banda gamma no se presentó en 2/35 muestras, con el 5.71%. Un tercer grupo

TABLA III
MOVILIDAD RELATIVA DE LAS FRACCIONES PROTEICAS SERICAS
COMPARADAS POR GRUPOS DE ESPECIE

Especie	Movilidad Relativa (M.R.)				
	Albúmina	1	2		
Humana	0.0781 ±	0.3087 ±	0.4654 ±	0.6138 ±	0.8718 ±
n=20	0.0025*	0.0167	0.0247	0.0330	0.0359
Gallina	0.0954 ±	0.2857 ±	0.4952 ±	0.7533 ±	0.8143 ±
n=6	0.0075	0.0000	0.0149	0.0034	0.0000
Zamuro	0.1189 ±	—	0.4702 ±	0.6724 ±	0.8762 ±
n=35	0.0190*		0.0390	0.0424	0.0448

$$M. R. = \frac{\text{Distancia banda}}{\text{Distancia total del recorrido}}$$

* = Desviación estándar

P (α) = 0.05 no significativo

separaciones proteicas de suero de zamuro se presenta en la Fig. 3, mostrándose los cuatro casos descritos:

a.- Patrón general con cuatro bandas (ALB, Glob. α 2, Glob. y Glob. γ).

b.- Caso en que falta la banda beta.

c.- Caso en que falta la banda gamma.

d.- Disminución de la concentración de la banda de Albúmina, con ausencia de la banda Beta. El análisis de los valores de concentración en g/dL, de las fracciones proteicas individuales, permitió una mayor concentración de la fracción globulínica, en relación a la de Albúmina, confirmada por la determinación del cociente Albúmina/Globulina (A/G), el cual fue de 0.43 ± 0.15 para la muestra total. La fracción mayormente responsable de la alta concentración globulínica es la Globulina Alfa 2, con una concentración del 2.44 ± 1.15 g/dL representando el $45.97 \pm 9.71\%$ de las proteínas totales. Los referidos valores pueden observarse en la Tabla V, donde se reportan los valores de concentración en g/dL, y en porcentaje, de las fracciones proteicas individuales, presentes en el suero del zamuro. El estadístico "t" de Student no mostró diferencia significativa entre los grupos de edad y la muestra total ($p = 0.05$).

En la Fig. 4 se presentan los patrones proteicos séricos, representados por electroforegramas, de las

especies humana, Gallus gallus domesticus y Coragyps atratus, donde se observan las características particulares en este último.

Los resultados de positividad, frente al serodiagnóstico específico en valores de porcentaje, son reportados en las Figs. del 5 al 8. Se utilizó un número de 45 muestras y los análisis de positividad se realizaron en la distribución por grupos de edad.

Para la muestra total (45/45), los mayores porcentajes de positividad, corresponden a *Mycoplasma gallisepticum*, representados por el 71.11% para la muestra sin diluir y 32.0% en dilución 1:10, Figs. 6 y 7. Las determinaciones de anticuerpos anti-toxoplasma, por su parte también observaron, altos porcentajes de positividad dado por el 66.66% para la muestra total, Fig. 5. Mínimos porcentajes de positividad equivalentes al 2.22% fueron obtenidos en la determinación de anticuerpos antibacterianos, frente a *Salmonella pullorum* y *Brucella abortus*, Fig. 8. Las determinaciones de anticuerpos antivirales, frente al virus de la enfermedad de Newcastle (EN), no detectaron respuestas positivas en ninguna de las muestras.

En observaciones por grupos de edad, se determinó el mayor porcentaje de positividad, frente al toxoplasma, entre la población juvenil representado por el 77.77%

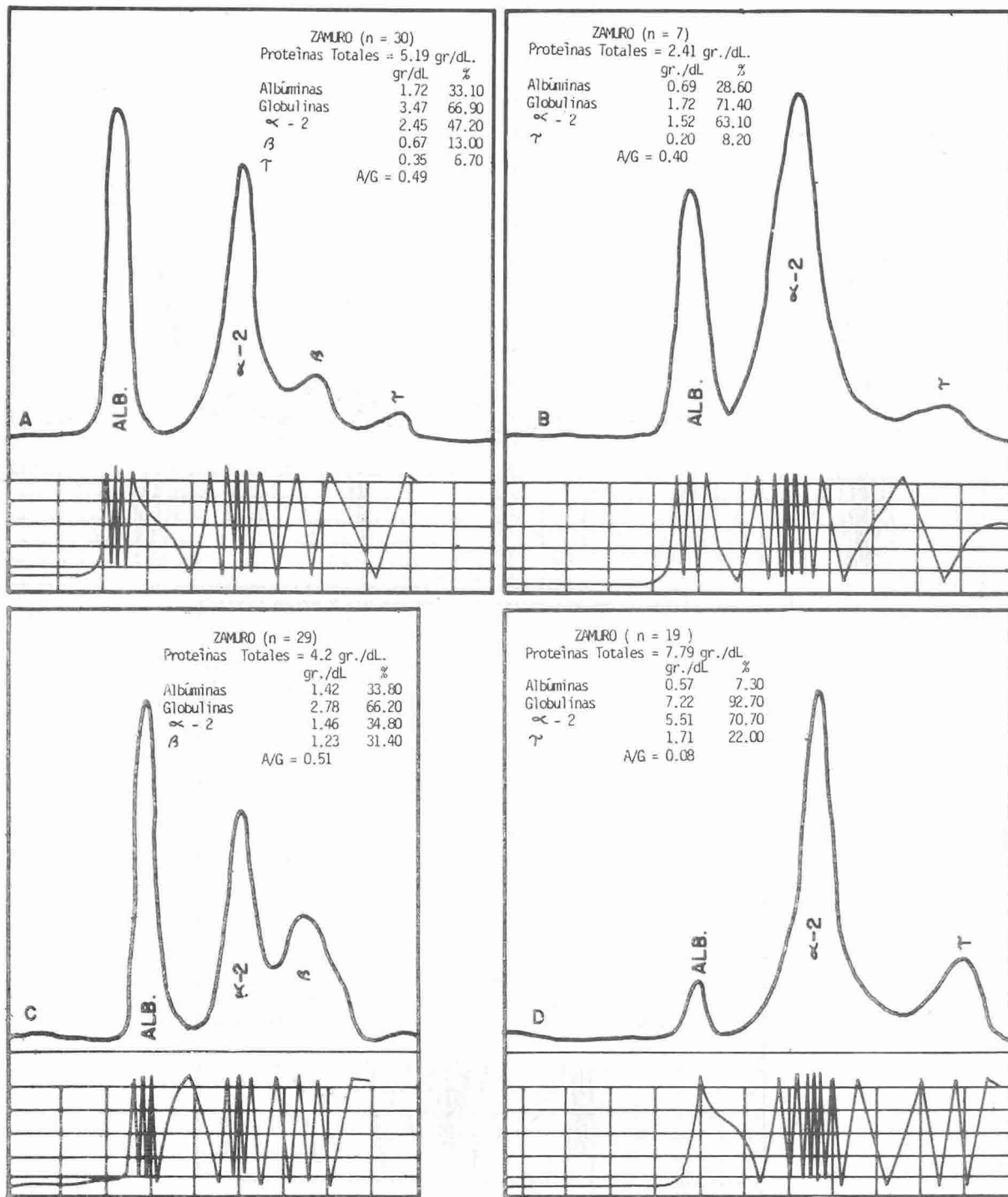


FIG. 3. Electroforegramas más representativos de las separaciones proteicas en muestras séricas de zamuro (*Coragyps atratus*). A. Patrón General con cuatro (4) bandas (ALB, Glob. Alfa 2, Glob. Beta y Glob. Gamma), B. Ausencia de la Banda Beta, C. Ausencia de la Banda Gamma y D. Disminución de la Concentración de Albúmina, con la Ausencia de la Banda Beta.

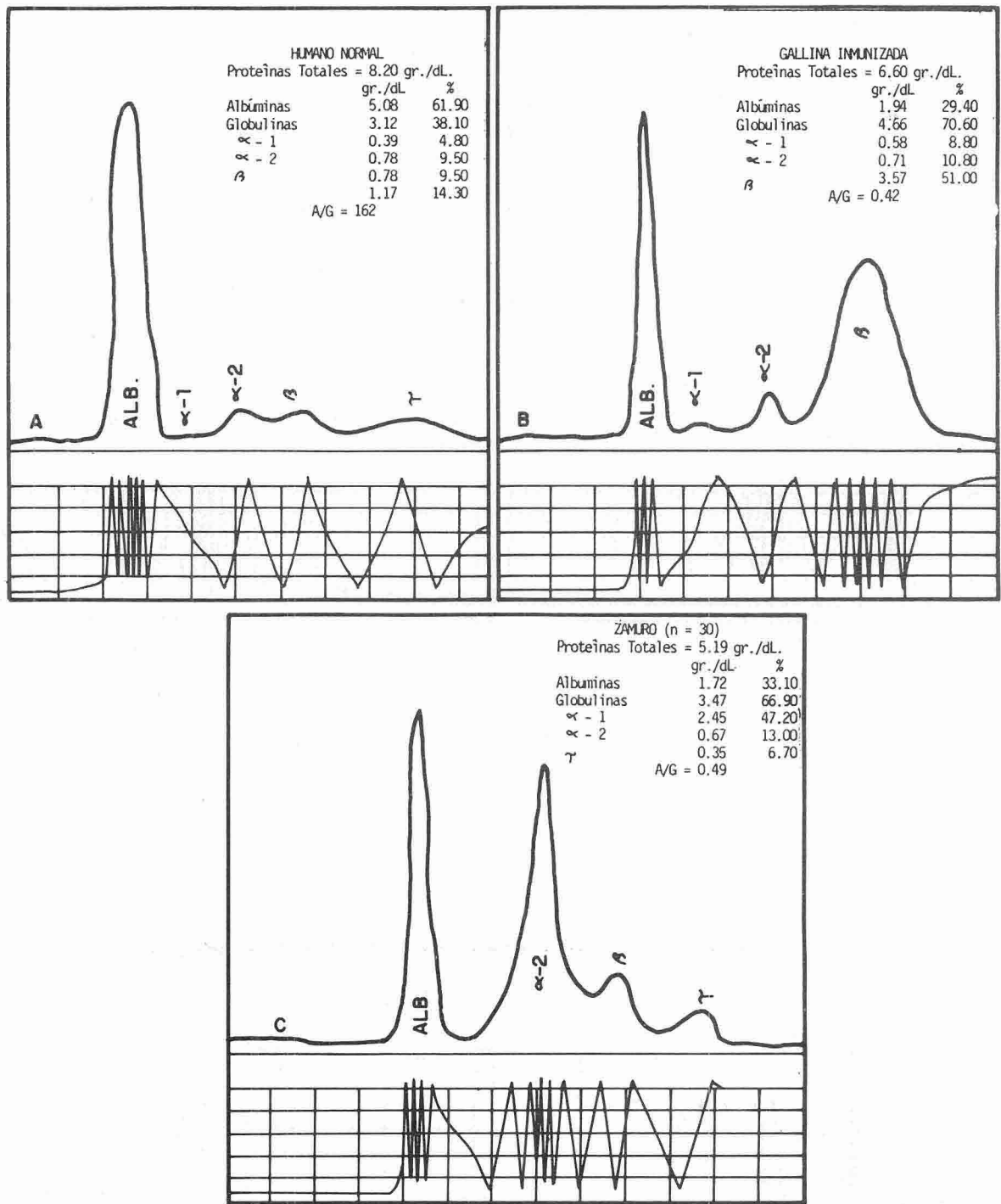


FIG. 4. Electroforegramas de los patrones proteicos en muestras séricas de las especies humana (A); gallina (*Gallus gallus domesticus*) (B) y zamuro (*Coragyps atratus*) (C).

TABLA IV

**DISTRIBUCION CUALITATIVA DEL PATRON PROTEICO DEL SUERO
EN SUS FRACCIONES CONSTITUYENTES EN ANALISIS
SOBRE 35 ESPECIMENES DE LA ESPECIE CORAGYPS ATRATUS**

N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	X(+)	X(-)		
ALB n	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	91.43	8.57		
ALB b	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	8.57	91.43
Alfa 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.00	100.00	
Alfa 2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	100.00	0.00	
Beta	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	71.43	20.57	
Gamma	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	94.29	5.71	

ALB n = Albumina normal

ALB b = Albúmina baja

X(+) = Porcentaje de positivos: presencia de la banda

X(-) = Porcentaje de negativos: ausencia de la banda

TABLA V

**CONCENTRACION DE LAS FRACCIONES PROTEICAS SERICAS
EN LA ESPECIE CORAGYPS ATRATUS, DISTRIBUIDAS POR GRUPOS DE EDAD**

Grupo de Muestra	Albúmina		GLOBULINAS						Relación A/G
			Alfa 2		Beta		Gamma		
	g/dL	%	g/dL	%	g/dL	%	g/dL	%	
Jóvenes n=7	1.31 ± 0.55*	27.01 ± 10.88	2.39 ± 0.76	48.90 ± 13.32	0.74 ± 0.38	19.25 ± 5.95	0.61 ± 0.41	12.69 ± 8.69	0.39 ± 0.18
Subadulto n=13	1.31 ± 0.31*	27.95 ± 10.09	2.51 ± 1.52	45.70 ± 11.58	0.90 ± 0.44	19.53 ± 9.39	0.93 ± 0.91	15.18 ± 8.84	0.41 ± 0.18
Adulto n=15	1.55 ± 0.60*	31.55 ± 5.31	2.40 ± 0.99	48.47 ± 9.18	0.78 ± 0.48	17.97 ± 6.03	0.44 ± 0.36	9.72 ± 4.33	0.47 ± 0.11
Muestra Total n=35	1.41 ± 0.50*	31.29 ± 5.85	2.44 ± 1.15	45.97 ± 9.71	0.81 ± 0.43	18.84 ± 7.28	0.64 ± 0.63	0.82 ± 5.85	0.43 ± 0.15

* = Desviación estándar

p (α) = 0.05 no significativo

seguido del 70.0% en los adultos y el 60.0% para los subadultos, Fig. 6. Para micoplasma, el mayor porcentaje de positividad, se situó en el grupo de subadultos, dada por el 80.0% seguido del 77.77% para los jóvenes y el 65.0% para los adultos. Las determinaciones de *Mycoplasma* en dilución 1:10 de la muestra, sobre las mismas positivas sin dilución, mayormente representativas de la realidad, ubicaron el mayor porcentaje de positividad en la población de adultos, dado por el 50.0%, seguidos del 22.22% para los subadultos y el 20% para los jóvenes, Fig. 8. Las mínimas respuestas positivas, obtenidas en las determinaciones de salmonella y brucella, fueron observadas por la población de adultos, con sólo el 5.0% encontrándose en ambos casos sólo una muestra positiva en la población general (n=45).

En relación a la determinación de Newcastle, no se detectaron respuestas positivas en ninguna de las muestras. En la inmunización experimental, con la cepa La Sota del Newcastle se demostró la producción de anticuerpos luego de la segunda dosis, aunque en títulos mínimos, alcanzando el máximo en 1:20, Tablas VI y VII.

En relación a la determinación de las proteínas totales el análisis de comparación de medias se deduce que el valor promedio de la concentración, obtenido para la muestra total, representa el nivel de proteínas totales en

suero, en la especie de *Coragyps atratus*. El valor obtenido resultó ser un poco mayor que el reportado por Coleman y col.^[4] (n = 45, X = 4.2 ± 0.07 g/dL), para la especie *Coragyps atratus*.

Los valores de proteínas totales en suero obtenidos por Coleman y col.^[4] y por el presente estudio se encuentran dentro del rango de concentración determinado para la mayoría de especies de aves normales, que oscila entre 3 y 6g/dL^[17].

Las características particulares de la distribución proteica obtenida en la separación electroforética de muestras séricas de zamuro, son evidenciables en la comparación de las mismas con los patrones conocidos y establecidos en la especie aviar *Gallus gallus domesticus* (gallina) y en el humano. Tales características se basan principalmente en niveles elevados de las fracciones globulínicas en el zamuro, con la especialmente marcada elevación de la región Alfa 2, que se presentó como patrón general en todos los individuos constituyentes de la muestra.

La electroforesis en suero aviar, básicamente en pollo doméstico, ha revelado cinco fracciones que corresponden a las denominadas, Albúminas, Globulina α 1, Globulina α 2, β Globulina y γ Globulina del suero de

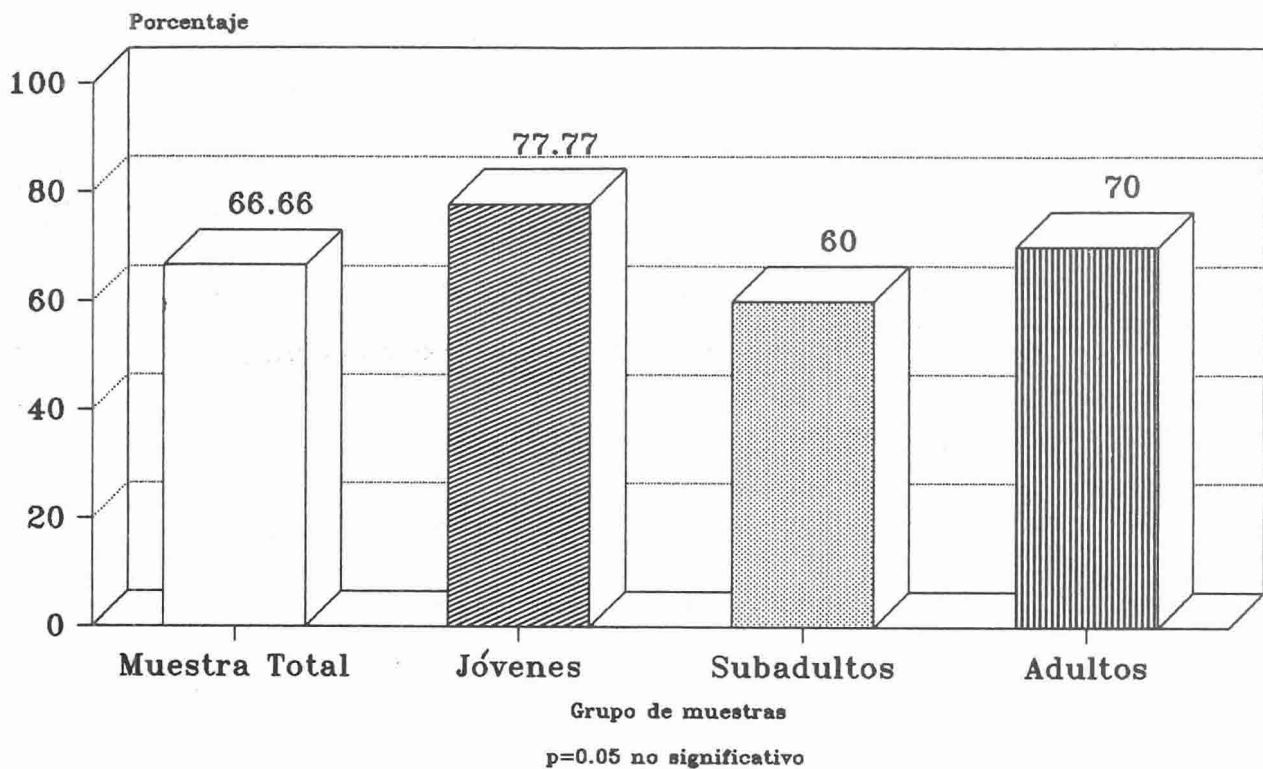


FIG. 5. Resultados en porcentaje de positividad al *Toxoplasma gondii* en grupos de muestras distribuidos por edad.

mamíferos^[17]. Con respecto a lo enunciado, se observa como característica particular en el suero del zamuro la ausencia total de la Globulina α 1. Estudios de inmunoelectroforesis y cromatografía, han permitido individualizar las proteínas correspondientes a las diferentes fracciones en suero de mamíferos y humanos^[12], conociéndose entre las albúminas, las pre-albúminas y las albúminas propiamente dichas; igualmente, con movilidad α 1 se conocen la α - 1 fetoproteína, la α - 1 lipoproteína el ácido α - 1 glicoproteico, la α - 1 antitripsina, la α - 1 antiqumitripsina y el inhibidor inter α - tripsina, las cuales no se encontrarían en el suero del zamuro. Entre las globulinas α 2 se encuentran, la ceruplasmina, la α 2 macroglobulina, la haptoglobulina y los componentes C₃ y C₄ del complemento, que pueden igualmente separarse en la fracción Beta. En esta última también son separadas la transferrina, el componente C₃ activador, la hemopexina, el plasminógeno, la β - lipoproteína, la protombina, la proteína "C" reactivo (CRP) y el componente C₁ inhibidor y C₃ proactivador del complemento. Finalmente entre las gammaglobulinas se separan las inmunoglobulinas. IgG, IgM, IgA, IgE e IgD, pudiendo separarse también en la fracción beta, básicamente la IgM. En suero de aves, se han evidenciado tres clases mayores de inmunoglobulinas, la IgG, la IgM y la IgA^[17]. Estos anticuerpos pueden

migrar tanto en la región beta como en la región gamma. Se ha demostrado que la IgG migra primariamente en la región de globulina gamma, mientras que la IgM migra en la región con movilidad beta. Con respecto a la IgA aviar, se ha conocido que su estructura es diferente a la de mamíferos pero de función similar, encontrándose principalmente en secreciones externas con sólo, cerca del 4% localizado en el suero. Por su parte la IgM y la IgG de aves, han presentado características comparables a las de mamíferos^[17].

Estudios sobre movilidad relativa y distribución del patrón proteico, se han realizado sobre diferentes especies de animales domésticos. El suero de vaca, se separa en fracciones simples de alfa, beta y gamma globulina, pudiendo ocurrir dos semifracciones gamma 1 y gamma 2. De igual forma sueros ovinos, caprinos y felinos, son generalmente resueltos en fracciones simples de las zonas alfa, beta y gamma. Por su parte los sueros caninos muestran dos globulinas alfa, alfa 1 y alfa 2, una beta y dos gamma, gamma 1 y gamma 2. En el caballo, se presentan dos alfa, dos beta y una gamma. Según lo expuesto se hace evidente un alto grado de arbitrariedad, en las zonas asignadas a las diferentes clases de globulina de una especie a otra^[15]. En el zamuro (*Coragyps atratus*), se ha determinado mediante el pre-

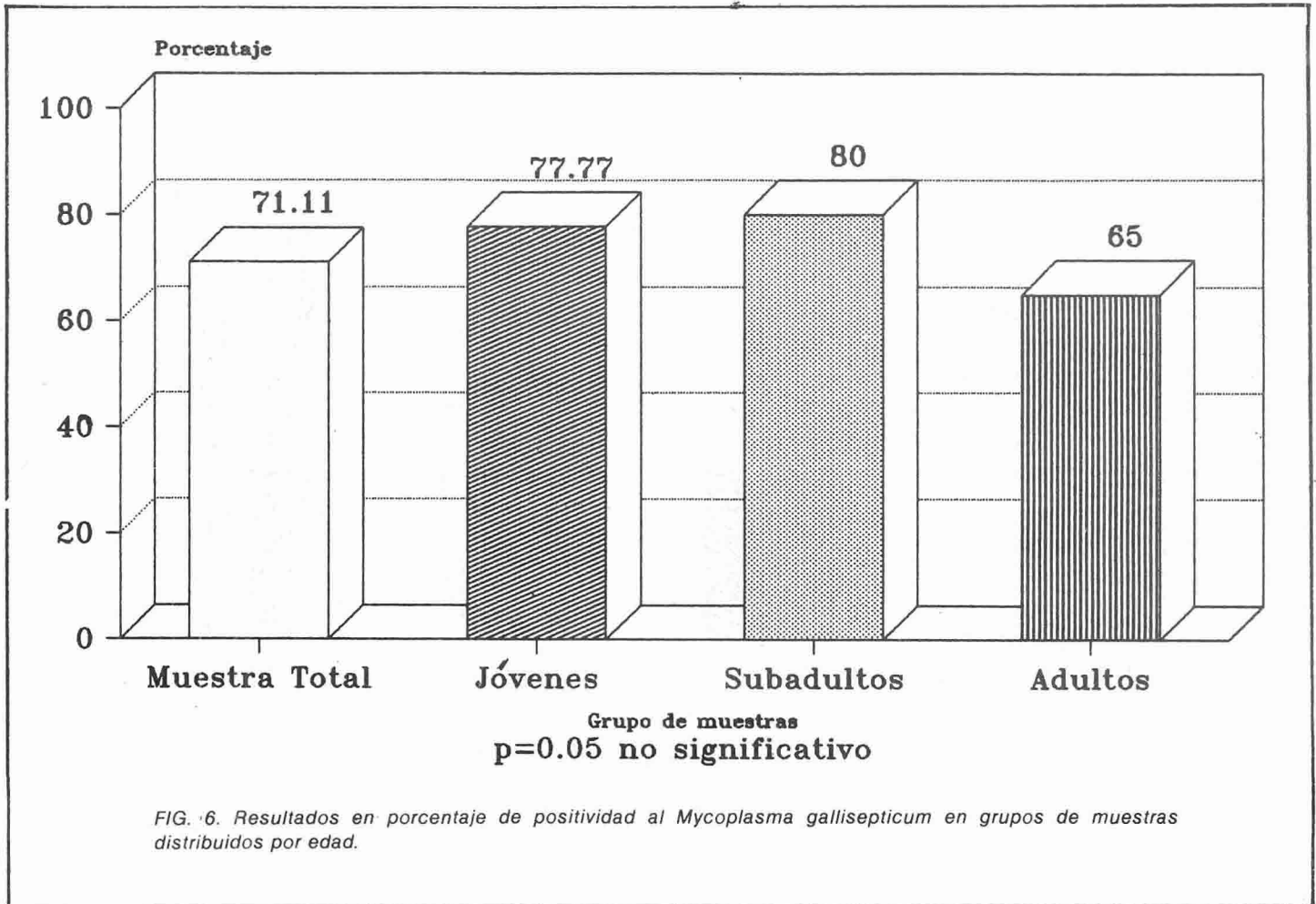


TABLA VI

ESQUEMA DE INMUNIZACION PARA LA OBTENCION DE ANTICUERPOS ESPECIFICOS CONTRA NEWCASTLE, EN EL ZAMURO (*CORAGYPS ATRATUS*)

Tiempo (días)	0	7	15
Inoculación*	1 ra	2da	—
Sangrado	—	1er	2do

* = Se utilizó la vacuna de la cepa La Sota del virus de Newcastle.

TABLA VII

TITULO DE ANTICUERPOS ESPECIFICO CONTRA EL VIRUS DE LA ENFERMEDAD DE NEWCASTLE COMO RESULTADO DE LA INMUNIZACION EXPERIMENTAL EN ZAMUROS

t (días)	N	1	2	3	4
Día 0	—	—	—	—	—
1 ra Dosis	—	—	—	—	—
Día 7	—	—	—	—	—
2da Dosis	—	—	—	—	—
Día 15	—	1:20	1:5	—	—

sente estudio, la distribución de clases globulínicas, en fracciones simples de alfa, beta y gamma, con movilidades relativas comparables a las presentes en suero de pollo doméstico y humano. Con respecto a la Globulina α la misma, en el zamuro presentó la movilidad similar a

Globulina α 2 de humano y gallina, como se ha referido.

Estudios de electroforesis de proteínas séricas en suero aviar (gallina), considerando la influencia de la edad, han referido en cociente A/G, similar a 1, en los inicios del desarrollo el cual disminuye con respecto al

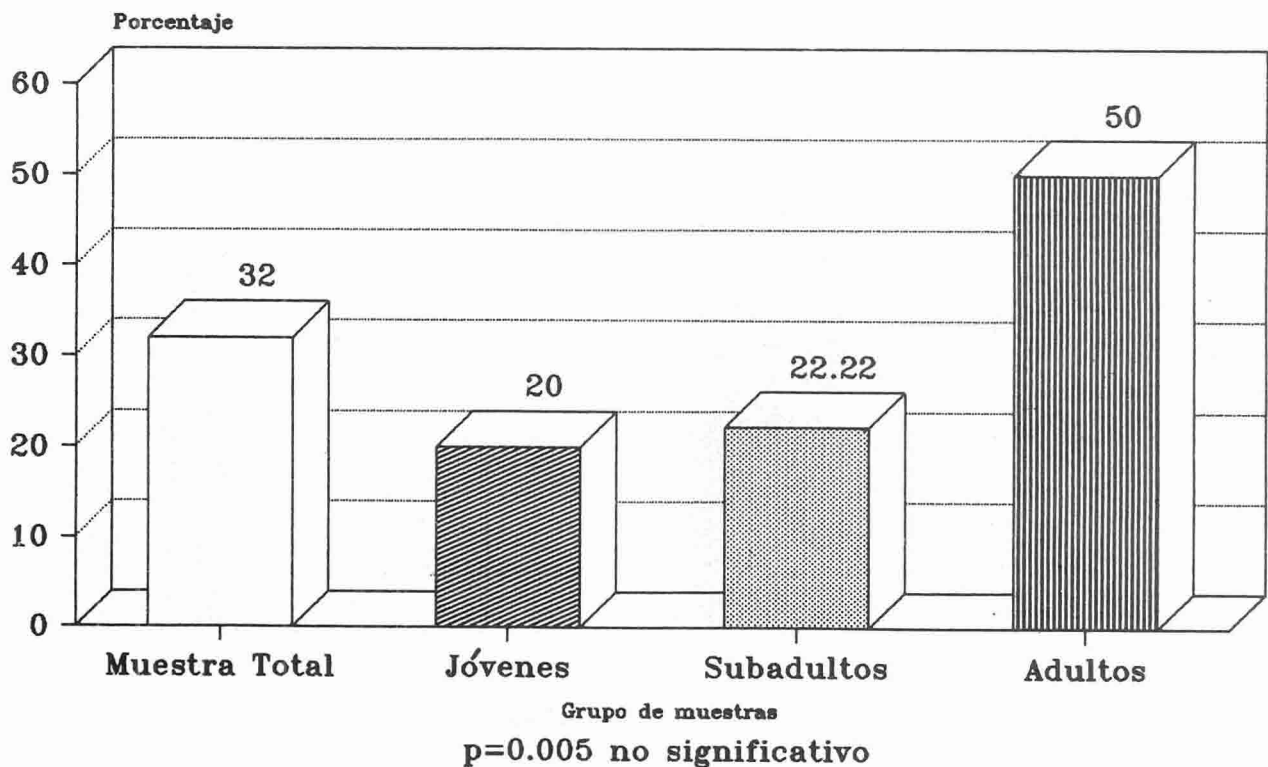


FIG. 7. Resultados en porcentaje de positividad al *Mycoplasma gallisepticum*, en dilución 1:10 del suero en grupos de muestras distribuidos por edad.

tiempo de vida. Dicha disminución del cociente A/G, responde a un aumento de la fracción globulínica, representado por el incremento de la región Gamma. Este mayor incremento localizado en la región Gamma, responde a la acción del sistema inmune, basado en la producción de anticuerpos específicos en respuesta al contacto antogénico del individuo con su medio ambiente^[11, 15, 17]. Se ha demostrado también en gallinas en puesta, que el aumento globulínico radica en la región Gamma, causado en este caso por la presencia de hormonas del tipo estrógenos^[17].

En suero de zamuro (*Coragyps atratus*), se ha demostrado mediante el presente estudio, que la prevalencia en la fracción globulínica es debida a la alta concentración de la región α 2, la cual comprendería proteínas tales como: ceruplasmina, haptoglobulina y α 2-macroglobulina. El aumento de las mencionadas proteínas responde a razones de orden patológico, en las diferentes especies de mamíferos incluso el hombre. Dicho aumento se produce a consecuencia de infecciones, neoplasias, inflamaciones crónicas, agudas y degenerativas, síndrome nefrótico, nefropatías, gastroenteropatías con pérdida de proteínas y por procesos de destrucción tisular^[15]. Del mismo modo en especies de aves, se ha determinado la alta correlación del incremento de ceruplasmina, fibrinógeno y haptoglobulina, durante los procesos infecciones y de destrucción de tejidos, como los que ocurren posterior a la cirugía, en aves con osteomielitis^[15].

Estudios sobre proteínas séricas en mamíferos, han demostrado que la concentración relativa de las proteínas individuales, puede cambiar sin una alteración del total proteico. Esta condición puede tener su origen en varios mecanismos, incluyendo metabólico, fisiológico y patológico. Lo expresado puede ser visualizado en análisis del cociente A/G. En general se ha observado como regla que cuando las globulinas se incrementan ocurre un descenso de las albúminas y el concomitante decremento de la relación A/F^[15].

En general los procesos infecciosos y otras causas de enfermedad pueden alterar el patrón proteico normal del suero. La clínica está constantemente confrontada con la necesidad de diferenciar entre una y otra. Desafortunadamente un examen de perfil proteico suministraría poca ayuda a este respecto^[6].

Es de fundamental importancia completar la información proporcionada por el análisis del patrón proteico mediante las determinaciones anatómicas, fisiológicas y biológicas que permitan determinar los estados de salud o de enfermedad en la especie *Coragyps atratus*^[7].

Con respecto al serodiagnóstico, los resultados no exponen un lineamiento general de positividad, entre un determinado grupo de edad y para un determinado agente infeccioso. Análisis más realistas sobre la influencia de la edad, en la respuesta de producción de anticuerpos, deben estar basados en estudios del individuo y de su respuesta inmune, desde su etapa natal, incluso embrionaria, hasta el máximo desarrollo y con el conocimiento exacto de la edad.

La presencia de anticuerpos antitoxoplasma en el zamuro aunque en títulos mínimos (mayormente 1:64 llegando a observarse los títulos máximos de 1:225 y 1:1024), menores a los observados en humanos, confirma a la toxoplasmosis, como una parasitosis cosmopolita.

La ausencia de la enfermedad, en individuos serológicamente positivos, sugiere la existencia de cierta inmunidad, con presencia latente de la enfermedad. La serología positiva no puede considerarse aisladamente como diagnóstico de la enfermedad^[5].

En relación a la micoplasmosis, la ausencia de afecciones respiratorias en los especímenes examinados, indica la ausencia de enfermedad, lo que a su vez, refiere la presencia de inmunidad frente a la infección, que podría estar representada por la presencia de anticuerpos séricos, que fueron observados con relativos altos porcentajes de positividad. Entre las aves domésticas se ha demostrado que las aves que resisten la enfermedad quedan inmunes a la misma^[14], cabría considerar la

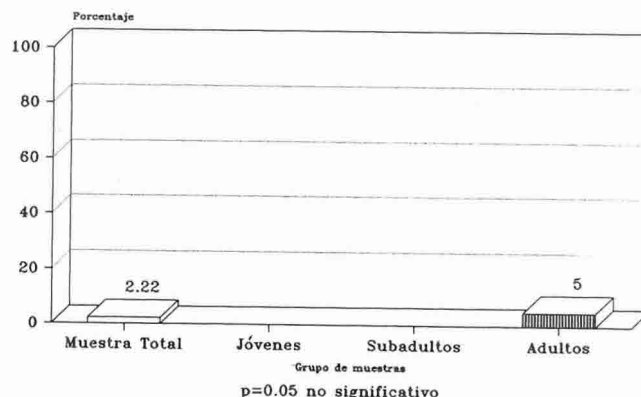


FIG. 8. Resultados en porcentaje de positividad a *Salmonella pullorum* y *Brucella abortus*, en grupos de muestras distribuidos por edad.