

# BRUCELOSIS: TÉCNICA DE POLARIZACIÓN FLUORESCENTE, PARA ESTAR SEGUROS

Giménez P.M.<sup>1</sup>, Barcos O. G.<sup>2</sup>, Moran R. D.<sup>3</sup>. 2007. Revista Brangus, Bs. As., 29(55):62-66.

1 y 2.- Méd. Vet. Laboratorio Colon.

3.- Técnico Laboratorio Colon.

[www.produccion-animal.com.ar](http://www.produccion-animal.com.ar)

Volver a: [Enfermedades de la reproducción](#)

## INTRODUCCIÓN

Los resultados de un ensayo permiten observar que un porcentaje de animales que catalogamos como reaccionantes a Brucelosis por las técnicas de SAT/2-ME, son realmente negativos cuando se los procesa por la Técnica de Polarización Fluorescente. La incorporación de este método, un gran aporte en la lucha contra la enfermedad.

En el año 1966 comienzan en Argentina las acciones contra la Brucelosis bovina a través de la obligatoriedad de la vacunación de las terneras.

Recién en el año 1994 (Res. 1269/93) se incorporan algunas acciones de saneamiento, utilizando como herramientas las técnicas de Antígeno bufferado en placa (BPA), Seroaglutinación lenta en tubo (SAT) y 2-Mercaptoetanol (2-ME). Estas acciones sanitarias, sumadas al manejo, logran disminuir la prevalencia de la Brucelosis bovina.

En el curso del año 2006, el SENASA incorpora al Plan Nacional de Brucelosis las técnicas de Elisa y Técnica de Polarización Fluorescente (FPA). La Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) considera inadecuada la técnica de SAT para el comercio de animales, siendo más específicas la FC (Fijación del Complemento), Elisa y FPA. Las características diagnósticas de estos dos últimos ensayos son similares o superiores a la FC. Debido a que son más fáciles de realizar técnicamente y más consistentes se prefiere el uso de cualquiera de ellas a la FC.

La República Argentina es uno de los pocos países que continúa utilizando las pruebas de SAT y 2-ME como confirmatorias.



## EL ENSAYO

Se utilizaron 30.015 muestras de suero bovino procedente de establecimientos de las provincias de Buenos Aires, Santa Fe, Córdoba, Entre Ríos, San Luis, La Pampa, Chaco y Formosa, que ingresaban al laboratorio para controles de rutina, saneamiento, traslados, certificación y recertificación. Las muestras procedían de establecimientos de tambo y cría, en saneamiento y libres de brucelosis.

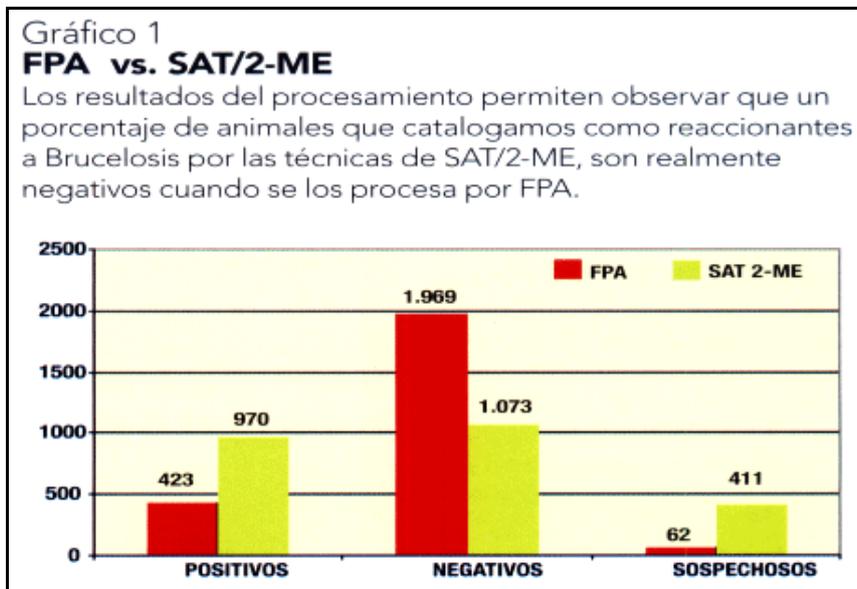
Como pruebas diagnósticas se utilizaron las técnicas de BPA, SAT y 2-ME, según el manual de procedimientos de la Red de laboratorios del SENASA. El antígeno de BPA y SAT provenía del Laboratorio Biológico de Tandil.

Para la técnica de FPA se siguieron las instrucciones del Manual de la OIE, utilizando el antígeno de Diachemix. Para ese ensayo las muestras se leyeron en un lector de luz polarizada, modelo Sentry 100.

Se utilizaron sueros controles de referencia positivos y negativos.

## LOS RESULTADOS

El Gráfico 1 muestra el porcentaje de muestras que resultaron negativas, sospechosas y positivas según la técnica utilizada:



Por la técnica de SAT/2-ME se detectaron 970 positivos y 423 por FPA. Por lo tanto, 547 sueros (56,39 %) positivos por SAT/2-ME resultaron negativos por el método de FPA.

Por la técnica de SAT/2-ME se detectaron 411 sospechosos y 62 por FPA. Por lo tanto, 349 (84,91 %) sueros sospechosos por SAT/2-ME resultaron negativos por el método FPA.

Por la técnica de SAT/2-ME detectaron 1.073 negativos y 1.969 por FPA. Por lo tanto, la FPA detectó 826 (45,51 %) muestras negativas más que la técnica de SAT/2-ME.

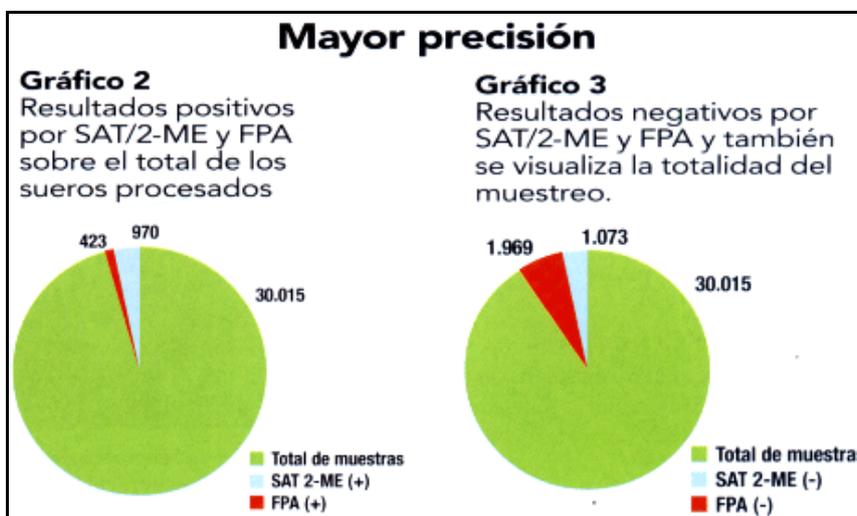
Los resultados del procesamiento permiten observar que un porcentaje de animales que catalogamos como reaccionantes a Brucelosis por las técnicas de SAT/2-ME, son realmente negativos cuando se los procesa por FPA.

La incorporación de este método en el Programa Nacional de Brucelosis y la puesta en práctica por los laboratorios de red del SENASA es, sin duda, un gran aporte, ya que permite:

1. Detectar animales realmente enfermos de Brucelosis.
2. No condenar animales sanos (a faena).
3. Comercializar hembras con certificado sanitario antes de los 18 meses.
4. Efectuar las recertificaciones de establecimientos libres, evitando los inconvenientes en la aparición de falsos sospechosos y positivos.

La decisión de utilizar FPA en reemplazo del SAT y 2-ME como prueba de confirmación, presenta otras ventajas:

1. Permite procesar muestras hemolisadas.
2. Rapidez del ensayo.
3. Simplicidad del ensayo.
4. Fácil interpretación del ensayo.
5. Validación internacional del mismo.
6. No posee la toxicidad y el efecto cancerígeno del 2-ME.



## LOS COSTOS

El costo es sumamente accesible. Con sólo pensar que de un grupo de 100 animales muestreados sólo uno resulte "enfermo" por SAT/2ME y "sano" por FPA, el costo de no eliminar ese animal justifica gastos de laboratorio de dichos animales muestreados (cuadro 1).

**Cuadro 1**  
**Costo accesible, resultado certero**  
 Con sólo pensar que de un grupo de 100 animales muestreados sólo uno resulte "enfermo" por SAT/2-ME y "sano" por FPA, el costo de no eliminar ese animal justifica gastos de laboratorio de dichos animales muestreados.  
 Ejemplo de costos:

	Unitario (\$)	Total (\$)
100 determinaciones de BPA-SAT-2ME	2,5	250
1 determinación de FPA	10	10
100 extracciones de sangre	7	700
	Subtotal	960
	IVA	201,60
	Total	1161,60
Venta de hembra preñada al mercado	<b>Total</b>	<b>1200</b>

Ahora bien, sólo tenemos que considerar que por cada hembra sana (negativa) que descartamos como enferma nos alcanza para pagar:

- 1- Honorarios profesionales.
- 2- Análisis de laboratorio.
- 3- Lo que realmente importa: no estamos eliminando animales sanos.
- 4- No perdemos beneficios económicos por establecimiento libre.
- 5- Desaparece la presión para obtener certificados sanitarios que no se corresponden con los resultados.

De las muestras procesadas surgen otros datos muy interesantes:

- ♦ Vaquillonas de 18 a 26 meses de edad: esta categoría es sumamente problemática, ya sea en saneamientos o en rodeos libres a la hora de recertificar, porque en la mayoría de los casos se detectan positivos o sospechosos por las pruebas de SAT y 2-ME. Al enfrentar esas muestras al FPA resultan negativos en una proporción muy elevada.
- ♦ Terneras de 90 días, post vacunación con cepa 19: si bien la prueba de BPA es una excelente herramienta para monitorear la aplicación de la vacuna contra la Brucelosis bovina, no nos sirve como herramienta - junto a las pruebas de SAT/2ME- para vender, seleccionar, etc., antes de los 18 meses, hembras procedentes de establecimientos en saneamiento y, por ende, tampoco puede un establecimiento libre comprar esta categoría sin que implique un riesgo sanitario.

Mediante la utilización de FPA podemos analizar y emitir un resultado certero luego de los 120 días de aplicada la vacuna, convirtiéndose este acto en una herramienta de suma importancia para la comercialización de esta categoría de animales y en la selección de las futuras hembras para reposición.



Con la incorporación de las pruebas de ELISA y FPA al Programa Nacional de Brucelosis y su implementación por parte de los Laboratorios de la Red del Senasa, avanzamos en forma significativa en la sensibilidad y especificidad.

## TIEMPO DE PROCESAMIENTO

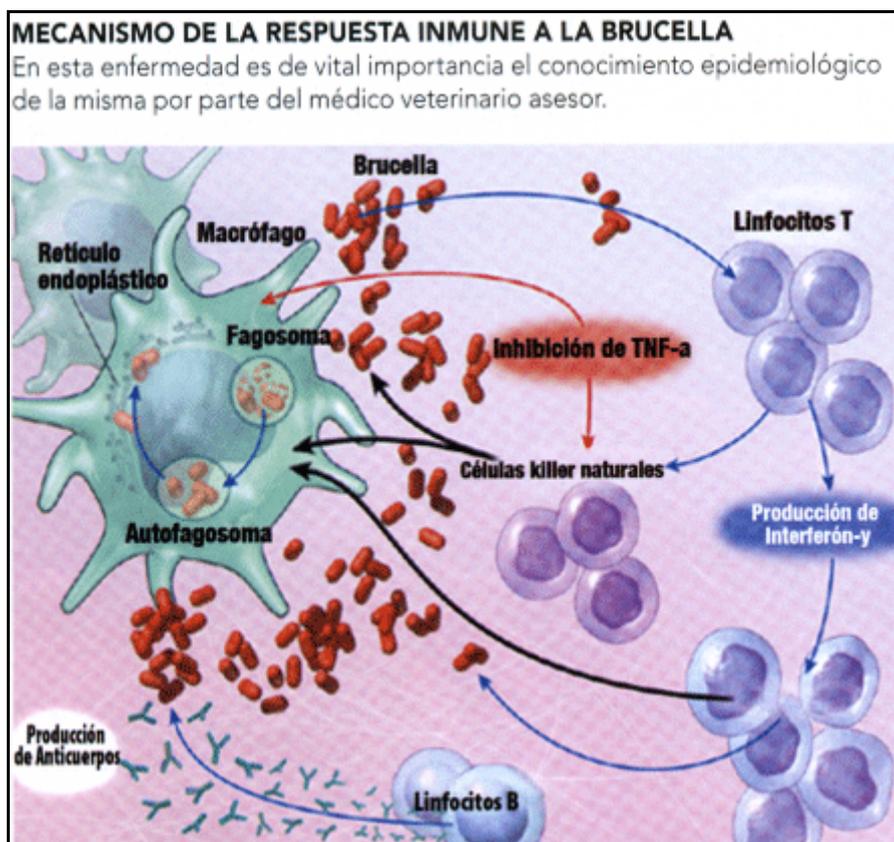
Utilizando el lector de luz polarizada "Sentry 100", el tiempo real de procesamiento es de 20 muestras por hora aproximadamente, dependiendo de la cantidad de muestras a procesar de cada protocolo, diluciones, búsqueda de las muestras, tiempos muertos, etc.

La combinación de las pruebas de BPA y FPA acortará los tiempos de entrega de resultados.

Si la cantidad de muestra que procesa el laboratorio esta en el orden de las 200 a 300 diarias es posible la utilización de equipos manuales de FPA (Sentry 100, 1.000). Cuando los volúmenes de muestras se acercan a 1.000 diarias es conveniente la utilización de equipos automáticos a los efectos de disminuir la incertidumbre de los ensayos y poder cumplir con el procesamiento de las mismas.

Con la incorporación de las pruebas de ELISA y FPA al Programa Nacional de Brucelosis y su implementación por parte de los Laboratorios de la Red del Senasa, avanzamos en forma significativa en la sensibilidad y especificidad; fundamentalmente en este último aspecto, el cual no nos aportaba las pruebas de SAT y 2-ME.

La totalidad de los sueros procesados por SAT/2-ME y FPA se guardan congelados, para que en un muy próximo trabajo puedan ser procesados por el ensayo de ELISA competitivo.



## A TENER EN CUENTA

En esta enfermedad es de vital importancia el conocimiento epidemiológico de la misma por parte del médico veterinario asesor y del laboratorio que procesa las muestras.

El asesor veterinario debe conocer los puntos críticos de la cadena epidemiológica para plantear una estrategia desde donde atacar para poder interrumpir el contagio de los animales en las fuentes de infección.

Es obligatorio e imperioso que los laboratorios de diagnóstico entiendan y conozcan la utilidad de cada ensayo (BPA, SAT, 2-ME, FPA, ELISA de Competición, ELISA Indirecto), a los efectos de indicar la prueba que corresponda de acuerdo a la situación epidemiológica planteada o la urgencia en la obtención de los resultados.

## HACIA DONDE IR

Consideramos que es importante avanzar en la implementación de ensayos de lectura en equipos, ELISA y FPA. Existen varios motivos; entre ellos encontramos:

- 1- Estandarización de las lecturas.
- 2- Utilización de controles positivos y negativos en forma continua.
- 3- Registro escrito de los ensayos.
- 4- Registro electrónico de los ensayos.

- 5- Reporte de datos epidemiológicos en forma rápida.
- 6- Disminución de la cantidad de puntos críticos.
- 7- Disminución de la cantidad de reactivos y soluciones.
- 8- Disminución de la cantidad de veces que se toman alícuotas de suero por cada ensayo (pipeteadas). Así, por ejemplo:
  - ◆ En las pruebas de BPA/SAT/2-ME se pipetea 9 veces alícuotas de suero de la muestra problema y se dispensa tres veces soluciones.
  - ◆ En las prueba de ELISA se pipetea 1 vez alícuota de suero de la muestra problema, 3 veces reactivos de 1 ensayo y se dispensa entre 8 y 10 veces soluciones de lavado.
  - ◆ En la prueba de FPA se pipetea 1 vez alícuota de suero problema y se dispensa dos veces soluciones. La utilización del método FPA como confirmatoria es una de las pruebas de elección. Se debe trabajar en adaptar los costos de la misma para utilizarla como prueba de barrido y, de esta forma, optimizar la detección de anticuerpos específicos para Brucela.
  - ◆ Los responsables de los laboratorios de diagnóstico y médicos veterinarios deben estar al tanto de las ventajas de cada una de las técnicas diagnósticas a solicitar, a fin de poder informar al propietario de los animales.

Volver a: [Enfermedades de la reproducción](#)