

XXI REUNIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA

“DR. BERNARDO JORGE CARRILLO”

ASOCIACION ARGENTINA DE VETERINARIOS DE LABORATORIO DE DIAGNOSTICO

Fundada el 21 de noviembre de 1984

Personería Jurídica 439/96

Afiliada a la World Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians (WAVLD)



6, 7 y 8 de OCTUBRE de 2016
SAN SALVADOR DE JUJUY

XXI Reunión científico-técnica Dr. Bernardo Jorge Carrillo : Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorio de Diagnóstico / Raúl Eduardo Marin ... [et al.] ; compilado por Raúl Eduardo Marin ... [et al.]. - 1a ed . - San Salvador de Jujuy : Universidad Nacional de Jujuy, 2016.

182 p. ; 29 x 21 cm.

ISBN 978-987-3926-15-0

1. Diagnóstico. 2. Veterinaria. 3. Bacteriología. I. Marin, Raúl Eduardo II. Marin, Raúl Eduardo, comp.

CDD 636.089

ISBN 978-987-3926-15-0



COMISION DIRECTIVA 2015-2016

Presidente:

- Dr. Raúl Eduardo Marín

Vicepresidente:

- Dra. Carmen Maffrand

Tesorera:

- Dra. Nirma González

Secretaria:

- Dra. Sandra Romero

Vocales Titulares:

- Dr. Daniel Aguirre
- Dra. María Graciela Draghi
- Dra. Carolina Gorchs
- Dra. Daniela Susana Martinis Mercado

Vocales Suplentes:

- Dra. Ana María Canal
- Dr. Gustavo Combessies
- Dra. Elvira María Falzoni
- Dr. Luis Samartino

110- DIAGNÓSTICO DE BRUCELOSIS PORCINA: ANÁLISIS DE CONCORDANCIA ENTRE PRUEBAS SEROLÓGICAS PARA ESTABLECIMIENTOS ENDÉMICOS Y LIBRES

A.R. Bence^{1,6}; S.E. Gutiérrez^{2,5}; P. Soto³; H. M. Echevarría³; C.S. Cacciato^{3,6}; M.A. Rivero^{4,6}; S. M. Estein^{1,5}

¹Laboratorio de Inmunología ²Laboratorio de Virología ³Laboratorio de Microbiología Clínica y Experimental. ⁴Área Epidemiología Básica. Facultad de Ciencia Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Pcia. de Buenos Aires. Pinto 399. Tandil (7000).

⁵CONICET. ⁶ CIC.

arbence@vet.unicen.edu.ar

INTRODUCCIÓN

La brucelosis porcina es una enfermedad infectocontagiosa, zoonótica y de curso crónico ocasionada por *Brucella suis*. La enfermedad se caracteriza por provocar aborto, infertilidad y patologías osteoarticulares, además de innumerables pérdidas económicas en la industria porcina. El control de la brucelosis porcina se apoya en la detección y eliminación de los animales infectados. Dado que el diagnóstico bacteriológico es laborioso y la liberación de la bacteria en fluidos y exudados es poco intensa y discontinua, lo habitual es realizar el diagnóstico serológico de la piara. Las pruebas utilizadas para el diagnóstico se consideran poco confiables para análisis a nivel individual. Si bien, estas pruebas son sensibles y aplicables a un gran número de muestras, poseen baja especificidad y no están debidamente estandarizadas para la especie porcina.

El objetivo este trabajo fue evaluar la concordancia entre las pruebas de aglutinación con antígeno tamponado en placa BPA y Rosa de Bengala (RB) y la Polarización de la Fluorescencia (FPA) para el diagnóstico de la brucelosis porcina en tres establecimientos de la provincia de Buenos Aires, con diferente estatus sanitario respecto de la enfermedad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se muestrearon 197 animales de tres establecimientos y de distintas categorías. Los establecimientos I (n=93) y II (n=14) presentaban animales con manifestaciones clínicas y serología positiva a brucelosis porcina (brote), mientras que el establecimiento III (n=90) era un establecimiento libre de la enfermedad.

Se tomaron muestras de sangre por punción yugular para la obtención de suero y sangre entera con heparina sódica para hemocultivo. En el establecimiento I se recolectó material de aborto: hígado, pulmón, bazo y líquido estomacal fetal. Se hicieron improntas de los órganos muestreados para el análisis por inmunofluorescencia directa (IFD) y coloración de Gram. Las muestras de sangre entera fueron sembradas por duplicado en placas de medio Skirrow (selectivo) y en medio bifásico (botellas con medio sólido selectivo y caldo *Brucella*). Se incubaron a 37°C en aerobiosis. Los cultivos fueron observados durante 10 días. Las colonias aisladas se identificaron mediante pruebas bioquímicas (Alton y col., 1988).

La detección de anticuerpos específicos se realizó mediante las pruebas de BPA, RB y FPA. Los antígenos y la gammaglobulina anti- *Brucella* conjugada a isotiocianato de fluoresceína fueron provistos por BIOTANDIL (Laboratorio Biológico de Tandil SRL). La prueba de FPA se realizó con el polarímetro Sentry 100 en BIOTANDIL. La realización e interpretación de las pruebas serológicas se realizó de acuerdo a la normativa oficial (Nicola, 2009).

Para determinar la concordancia entre las pruebas se evaluó el índice Kappa y se calificó del siguiente modo:

- excelente: índice Kappa mayor que 0,75.
- buena a regular: índice Kappa entre 0,40 y 0,75.
- pobre: índice Kappa menor que 0,40.

RESULTADOS

En el establecimiento I se aisló *Brucella suis* biotipo 1 por hemocultivo y de las muestras de feto. Las improntas de los órganos dieron resultado IFD positivo. No se aisló *B. suis* por hemocultivo en los establecimientos II y III. En la **Tabla 1** se muestran los resultados positivos en las pruebas de aglutinación y FPA por establecimiento.

Tabla 1. Resultados positivos en la prueba de aglutinación y/o FPA

Establecimiento	Aglutinación	FPA
I	18,18% (10/55)	61,81% (34/55)
II	71% (10/14)	100% (14/14)
III	0% (0/87)	0% (0/87)

En la **Tabla 2** se presenta la concordancia general entre las pruebas serológicas analizadas, es excelente para BPA-RB, regular a buena para BPA –FPA y RB-FPA.

Tabla 2. Concordancia general entre las pruebas serológicas

Pruebas serológicas		Kappa (IC95%)
BPA	RB	0,85 (0,72-0,98)
BPA	FPA	0,55 (0,41-0,69)
RB	FPA	0,49 (0,33-0,65)

La concordancia entre las pruebas de aglutinación es similar en los establecimientos endémicos, mientras que no se observa concordancia entre cualquiera de las pruebas de aglutinación y el FPA en esta situación epidemiológica (**Tabla 3**).

Tabla 3. Concordancia de las pruebas serológicas en los establecimientos endémicos

Establecimiento	Pruebas serológicas		Kappa (IC95%)
	BPA	RB	
I	BPA	FPA	0,75 (0,52-0,98)
	RB	FPA	0,39 (0,22-0,57)
	RB	FPA	0,26 (0,1-0,42)
II	BPA	RB	0,84 (0,53-1)
	BPA	FPA	0 (0-0)
	RB	FPA	0 (0-0)

Todos los cerdos del establecimiento III resultaron negativos a las tres pruebas serológicas.

Cabe destacar que aproximadamente el 17,26% (34/197) de los sueros analizados mostraron reacciones "atípicas" en la lectura de la prueba BPA, lo que generó confusión en la lectura.

DISCUSIÓN Y CONCLUSION

La prueba de FPA tiene la ventaja de ser una prueba objetiva, rápida y de fácil ejecución, requiere volúmenes menores de suero y no es afectada por la hemólisis.

El empleo de la prueba de FPA en establecimientos endémicos permitió detectar animales que se encontraban en la etapa aguda de la infección y que presentaban bajos niveles de anticuerpos. Por este motivo, la mayoría de los animales con resultado positivo a esta prueba fueron negativos en la prueba de aglutinación en los dos establecimientos endémicos.

De acuerdo a nuestros resultados, el empleo de las técnicas de BPA o RB no serían útiles como pruebas tamiz en porcinos debido al elevado porcentaje de animales falsos negativos. Asimismo, surge la necesidad de evaluar los valores de cortes propuestos para el FPA en esta especie.

En trabajos futuros compararemos la *performance* de las distintas pruebas convencionales con nuevas técnicas diagnósticas para evaluar sensibilidad y especificidad, teniendo en cuenta, la simplicidad operativa, seguridad y costos.

BIBLIOGRAFÍA

- Alton y col., 1988. Techniques for the brucellosis laboratory.
Nicola, AM, Elena, S. 2009. Manual de diagnóstico serológico de la brucelosis bovina. SENASA. Argentina.