

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS DE LAS PRUEBAS SEROLOGICAS

Dra Susana Conigliaro

GENERALIDADES

En los últimos años se ha visto un aumento significativo de las pruebas de laboratorio disponibles para el diagnóstico de las enfermedades infecciosas bovinas.

Sin embargo a menudo no solo se utilizan técnicas que poseen diferente grado de sensibilidad y especificidad sino que a veces la misma técnica está implementada de forma distinta y se aplican criterios de interpretación diferentes.

Es por ello que consideramos útil y necesario efectuar un repaso de las principales técnicas disponibles y considerar los criterios básicos de interpretación de los resultados.

Esta información será además de especial utilidad para los veterinarios clínicos que a menudo se enfrentan a graves problemas sanitarios y deben recurrir a laboratorios confiables para poder resolverlos.

Los estudios serológicos se efectúan sobre muestras de sangre aunque algunas enfermedades se pueden estudiar sobre muestras de secreciones o líquidos tisulares. La muestra a remitir tiene que tener la calidad necesaria para la utilización óptima de los servicios que el laboratorio puede ofrecer. Defectos en la recolección de la muestra, volumen inadecuado, defectos en la conservación y envío conspiran contra un estudio adecuado y un resultado acertado.

Un animal infectado presenta inicialmente una fase de incubación y el fin de la misma coincide con la presencia de lesiones y síntomas definidos y con la aparición de anticuerpos circulantes (aunque en algunas enfermedades las lesiones son leves y los síntomas pasajeros o poco evidentes). Si no se produce la muerte, los anticuerpos irán en aumento hasta alcanzar el máximo unos 20 –30 días post infección. Desde ese momento en adelante, los títulos tienden a decaer llegando a valores muy bajos, a veces no detectables por las técnicas convencionales. En otras infecciones los títulos persisten durante toda la vida útil del animal. En otros casos si bien el animal permanece serológicamente positivo, los títulos son fluctuantes.

En el laboratorio podemos analizar muestras de sangre individuales donde se estudia la circulación de los agentes infecciosos, detectando únicamente animales positivos o negativos

Si un animal ha tenido contacto con la enfermedad o ha sido vacunado, normalmente será positivo. Si estudiamos el 100 % de la población estamos haciendo un screening, lo cual es fundamental en la implementación de un programa de control o erradicación.

Si simplemente queremos conocer los problemas sanitarios de una explotación, haremos un monitoreo sobre un porcentaje de animales frente a los agentes infecciosos buscados. Este estudio solo exige una determinación a dilución única. Un monitoreo correcto hay que hacerlo sobre un 20 % de los animales "objetivo" de la explotación y debe centrarse sobre el "objetivo" que se quiere controlar, hembras de varios partos, terneros al pie de la madre, terneros de destete, hembras abortadas, etc. En una segunda etapa se pueden

titular los anticuerpos y darle interpretación diagnóstica, analizando solo los seropositivos (los que han salido positivos al screening). Los picos de alto título corresponden por lo general a enfermedad. Este estudio exige realizar diluciones de cada suero, sin embargo es la única forma de interpretar de manera confiable el título y por lo tanto la evolución de la enfermedad o la protección de una vacuna.

En algunos casos se puede hacer un estudio retrospectivo (estudiar los títulos de un par de sueros de varios animales tomados con un intervalo de 2 o 3 semanas entre sí) para averiguar la evolución del título de anticuerpos en el tiempo.

Es fundamental procesar todos los sueros el mismo día. Los resultados de este estudio van a depender de la elección de los animales a sangrar y del agente infeccioso. Por ejemplo si los animales son terneros de más de 30 días y sin vacunar o vacunados hace tiempo, la evolución de los títulos de anticuerpos debería ser plana. Si hay aumento de título de anticuerpos y no hubiera por medio ninguna vacunación, son sospechosos de una nueva infección. Hay que destacar que el estudio de "sueros pareados" en vacas abortadas con fecha de aborto desconocida no nos va a dar ninguna información ya que han podido seroconvertir en el momento de la primera toma de muestra.

Para numerosas enfermedades las pruebas serológicas constituyen el instrumento de diagnóstico de elección. Estas pruebas determinan la frecuencia y distribución de un agente infeccioso en determinada población a través de la detección de anticuerpos específicos en el suero sanguíneo o reacciones inmunitarias en los animales en estudio. Un resultado positivo

solo indicaría entonces la exposición del animal en cuestión al agente en algún momento de su vida previo al estudio, pudiendo encontrarse al momento de la prueba en periodo de incubación, enfermo, recuperándose o inclusive sano. Una vacunación con microorganismos muertos, atenuados o modificados también puede dar un resultado positivo, lo mismo que cuando el animal ha recibido anticuerpos maternos contra el agente. Cualquiera sea la técnica empleada en nuestro país aún resulta imposible diferenciar anticuerpos de origen infeccioso de aquellos de origen vacunal.

Por otra parte existe una serie de resultados de las pruebas serológicas que pueden deberse meramente a la existencia de mecanismos de defensa contra un agente distinto al que se está investigando pero que tiene alguna semejanza antigénica y produce reacciones cruzadas. Positividad no es sinónimo de enfermedad en la totalidad de los casos. Un animal puede resultar negativo cuando realmente está infectado y viceversa, si lo reciente de la infección no ha permitido aún el adecuado desarrollo de anticuerpos, o lo crónico de la enfermedad lo ha hecho pasar a un estado de anergia.

Un título elevado no siempre corresponde necesariamente a una enfermedad en evolución o una enfermedad reciente.

El resultado del estudio serológico expresa la cantidad de anticuerpos presente en una muestra (título de anticuerpos).

La serología no tiene valor diagnóstico si no demuestra aumento significativo del título entre el 1º y 2º muestreo, tomando la primera muestra al inicio de la enfermedad y la segunda 15-30 días después.

El estudio serológico puede ser cualitativo, indicando sólo la presencia o ausencia de anticuerpos o cuantitativo, donde se efectúan una serie de diluciones en progresión geométrica y el resultado esta dado por la fracción que representa la última dilución, en la que se observa el fenómeno investigado.

BRUCELOSIS

La técnica de BPA es una prueba tamiz cuyo resultado se expresa como NEGATIVO O POSITIVO, lo que significa que los animales son NEGATIVOS ó REACCIONANTES, debiendo estos últimos ser sometidos a pruebas complementarias para su diagnóstico definitivo. Los sueros que resulten positivos a BPA serán procesados por la técnica de SAT (seroaglutinación en tubo ó Wright) y 2 mercaptoetanol.

Los animales reaccionantes a la prueba de 2 mercaptoetanol (que fueron vacunados entre los 3 y 8 meses de edad) se deben considerar infectados, es decir que no se debe aceptar ningún título a 2 mercaptoetanol.

Los animales que resulten negativos a 2 mercaptoetanol y tengan títulos de 1/25 o 1/50 a SAT se consideran negativos.

Los animales que siendo negativos a 2 mercaptoetanol presentan títulos de 1/100 a SAT, se consideran sospechosos y deberán ser sangrados nuevamente pasados 20-30 días para comprobar su negatividad, de lo contrario se trata de un animal potencialmente positivo, y los que presentan título de 1/200 a SAT se consideran positivos aunque sean negativos a 2 mercaptoetanol.

Los resultados negativos a la prueba de 2 mercaptoetanol se consideran negativos en ese momento, pero si están en el periodo de incubación de la enfermedad aparecen negativos porque aún no pueden detectarse anticuerpos circulantes, de ahí la necesidad de realizar muestreos periódicos.

Para la interpretación de los resultados de Brucelosis es necesario tener muy en cuenta la edad de los animales en el momento de la realización del análisis y la edad a la que fueron vacunados ya que los animales vacunados por encima de la edad de 8 ó 9 meses mantienen anticuerpos durante más tiempo.

RINOTRAQUEÍTIS INFECCIOSA BOVINA (IBR) Y/O DIARREA VIRAL BOVINA (BVD)

El título de anticuerpos se informa como negativo (cuando no hay anticuerpos) o positivo (cuando hay presencia de anticuerpos en cantidades variables según las diluciones realizadas y la técnica empleada). La presencia de anticuerpos está indicando contacto con el virus y respuesta del individuo con formación de anticuerpos, pero no es posible saber si se debe a un contacto con el virus infeccioso causa de enfermedad o un virus vacunal.

En el diagnóstico por inmunofluorescencia de muestras individuales, los resultados se informan como positivos o negativos.

El diagnóstico por la prueba de seroneutralización en una prueba cualitativa (que es la que se utiliza por ejemplo para los toros de los centros de inseminación artificial) se informa como positivo (cuando se detectan anticuerpos neutralizantes) o negativos (cuando no se encuentran anticuerpos).

En caso de contar con muestras pareadas se puede realizar un estudio cuantitativo haciendo diluciones del suero problema. El resultado es el índice de seroneutralización, que expresa el logaritmo de la inversa de la dilución que neutraliza 100 partículas virales en 1 ml de virus.

En el caso de utilizar la técnica de inmunofluorescencia para muestras pareadas, las diluciones que se realizan son 1/5, 1/10, 1/20 y 1/40. Los títulos 1/10, 1/20, 1/40 se consideran positivos e indican contacto con el virus y la consiguiente respuesta de anticuerpos. El título 1/5 expresa escasa cantidad de anticuerpos o a veces puede indicar inespecificidad por lo cual como dato aislado no se debe tener en cuenta y se sugiere repetir el análisis 20 días después.

El diagnóstico por medio de la prueba de Elisa se expresa como positivo o negativo.

En el caso de BVD algunos terneros puedan llegar a nacer después de un proceso infeccioso de la madre en las primeras etapas de gestación lo que los convierte en inmunotolerantes (animales persistentemente infectados). Esto es, no seroconvierten (no aparecen anticuerpos en sangre), pero excretan virus. Estos animales al no reconocer el virus como cuerpo extraño (dado que la infección fue antes de que se desarrollara su sistema inmune) no producen o producen pocos anticuerpos, por lo que su detección mediante pruebas serológicas se complica. Normalmente estos terneros mueren antes de los dos años de vida. Es decir que en el caso de diagnóstico de virus de BVD una muestra negativa no siempre indica ausencia de contacto viral.

PARAINFLUENZA 3 (PI3)

El diagnóstico serológico para virus de PI3 se realiza por la técnica de inhibición de la hemoaglutinación (IHA) que mide la cantidad de anticuerpos capaces de inhibir la actividad hemoaglutinante del virus de PI3. Los resultados se expresan en unidades inhibitoras de la hemoaglutinación (UIHA) y se interpretan de la siguiente forma:

Hasta 80 UIHA: negativo

Entre 80 y 320 UIHA: exposición previa al virus de PI3

640 ó más UIHA: infección reciente al virus de PI3.

LEPTOSPIROSIS

El diagnóstico serológico de leptospirosis se realiza por medio de la técnica de microaglutinación de Martín y Pettit. Se realizan diluciones en base 2 desde una dilución inicial 1/200 hasta la última dilución que presenta título aglutinante. En el diagnóstico de leptospirosis es fundamental contar con muestras pareadas ya que se encuentra a menudo que la mayoría de los animales muestreados presentan títulos hemoaglutinantes bajos a la serovar Wolffi. También es necesario considerar que los anticuerpos protectores que confieren las vacunas son anticuerpos neutralizantes, mientras que los anticuerpos detectados por la prueba de Martín y Pettit son anticuerpos aglutinantes.

NEOSPOROSIS

El diagnóstico de esta enfermedad causada por el parásito *Neospora caninum*, se puede realizar por medio de la técnica de inmunofluorescencia indirecta. El resultado se expresa como negativo, cuando no se detectan anticuerpos, sospechoso, cuando se encuentran anticuerpos en la dilución 1/320 recomendándose repetir en análisis 15-20 días después, positivo cuando se encuentran anticuerpos en la dilución 1/640 o más.

Los resultados deben analizarse en el contexto del rodeo donde se realiza el estudio. Si en un rodeo con antecedentes de abortos se encuentra un 20-30 % de animales positivos, es posible considerar a *Neospora* como la causa de los mismos. Por otro lado si solamente el 5 % de los sueros analizados resultaran positivos es muy probable que la causa de los abortos sea otra.

CONCLUSIONES

Para una mejor comprensión se describen a continuación las situaciones que a menudo se presentan en el estudio serológico.

Estudio serológico realizado sobre una muestra única.

Resultado NEGATIVO

- a).- Ausencia de contacto con el agente investigado
- b).- Animal en período de incubación de la enfermedad

c).- Vacunación realizada recientemente

Resultado POSITIVO

a).- Hubo contacto con el agente investigado, haya o no expresión clínica de la enfermedad

b).- Animal vacunado contra el agente investigado

c).- Presencia de anticuerpos calostrales

ESTUDIO SEROLÓGICO REALIZADO SOBRE MUESTRAS PAREADAS

1º muestra NEGATIVA / 2º muestra POSITIVA

Seroconversión

a).- Vacunación entre 1º y 2º muestreo

b).- Infección entre 1º y 2º muestreo

c).- Animal incubando en el 1º muestreo con enfermedad en posterior evolución

1º muestra NEGATIVA / 2º muestra NEGATIVA

El agente investigado no es la causa del problema

Ausencia de contacto con el agente investigado

1º muestra POSITIVA / 2º muestra NEGATIVA

Fin de la infección

Desaparición de anticuerpos vacunales

Desaparición de anticuerpos calostrales

1º muestra POSITIVA / 2º muestra POSITIVA

1º MUESTRA MAYOR QUE LA 2º

Caída de anticuerpos calostrales

Caída de anticuerpos vacunales

Animal convalesciente

1º MUESTRA MENOR QUE LA 2º

Afección clínica o subclínica en evolución

Incremento de anticuerpos vacunales

1º MUESTRA IGUAL A LA 2º

Infección estabilizada

Anticuerpos vacunales estabilizados.

ETAPA	ESTRATEGIA OPERATIVA	TIEMPO DE DURACION TOMADO DESDE LA FECHA DE LANZAMIENTO DEL PLAN	CATEGORIZACION DEL ESTABLECIMIENTO	CODIGO DE EXIGENCIAS
I	CONFORMACION DE LA UNIDAD EJECUTORA LOCAL	Hasta los CIENTO OCHENTA (180) días	LIBRE SANEADO EN SANEAMIENTO FUERA DE PLAN	1 2 (+) 2 (+) 2 (+)
II	INSCRIPCION DE LOS PRODUCTORES EN EL PROGRAMA	Desde los CIENTO OCHENTA (180) días. Hasta los TRESCIENTOS SESENTA Y CINCO (365) días	LIBRE SANEADO EN SANEAMIENTO FUERA DE PLAN	1 2 2 2
III	EJECUCION DE TAREAS DE SANEAMIENTO Y CERTIFICACION	Desde UN (1) año Hasta los TRES (3) años	LIBRE SANEADO EN SANEAMIENTO FUERA DE PLAN	1 2 2 4
IV	CERTIFICACIONES Y RECERTIFICACIONES	Más de TRES (3) años	LIBRE SANEADO EN SANEAMIENTO FUERA DE PLAN	1 2 3 4