

# COMPARACIÓN DE LA POLARIZACIÓN FLUORESCENTE CON LOS TEST DE VIGILANCIA EPIDEMIOLOGICA DE BRUCELOSIS EN ARGENTINA

CONDE, S.1, CISTERNA, C.2, SALUSTIO E.1, PIAZZA, E.1, HOLLENDER, D.3, SCHUST, M.1, SILVA, V.1, \*SAMARTINO L.1

1. INTA - CICVyA – Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Centro de Investigaciones en Ciencias Veterinarias, Instituto de Patobiología - Área Bacteriología - Sección Brucelosis. Argentina.

2. Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires, Argentina.

CC 77 Morón, Buenos Aires (1712) Argentina. e-mail: [brucela@cnia.inta.gov.ar](mailto:brucela@cnia.inta.gov.ar)

3. CONICET - Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva, Argentina.

## INTRODUCCION:

La brucelosis bovina es aún un importante problema económico y de salud pública en Argentina y en otros países de América Latina. Las usinas lácteas hacen publicidad cuando la leche que procesan tiene un adecuado nivel higiénico sanitario desde el mismo tambo (calidad de origen) y bonifican al productor de acuerdo a la calidad de su producto. Un sistema eficiente de vigilancia epidemiológica permite la detección temprana de la Brucelosis Bovina en establecimientos lecheros con bajos costos, haciendo posible la implementación de medidas inmediatas de control y erradicación. Dicho sistema de vigilancia es necesario para mantener áreas libres de la enfermedad, ofreciendo a los compradores de productos lácteos, una evidencia documental del status sanitario. Para tal fin, algunos años atrás, se utilizaba la Prueba de Anillo en Leche (PAL) únicamente, pero la incorporación de la técnica de ELISA Indirecta (I-ELISA) en leche total del tambo, significó una mejora en la sensibilidad y especificidad del diagnóstico pudiendo ser aplicada de manera conjunta con PAL o como prueba única por los laboratorios de las usinas lácteas o terceros, que están habilitados por la Red de Laboratorios dependiente de la Dirección de Laboratorios y Control Técnico del Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria de Argentina. La Polarización de Fluorescencia (FPA) fue introducida en los años 90 para el diagnóstico serológico de la brucelosis en ganado bovino (1). Este ensayo se basa en medir la polarización de la luz causada por los cambios en el tamaño molecular como resultado de reacciones antígeno-anticuerpo (3). La prueba es sencilla de realizar, da resultados rápidos y utilizada en forma masiva, podría ser de bajos costos. Nielsen et al. (2) aplicó esta prueba en leche obteniendo resultados similares a IELISA. Para ello utilizaron muestras de leche de animales infectados artificialmente y de animales provenientes de rodeos libres.

## OBJETIVO:

Comparar los resultados de FPA en leche fresca, conservada y suero de leche con el fin de encontrar un método mas de vigilancia epidemiológica, que pueda utilizarse de rutina para el control de la enfermedad.

## MATERIALES Y METODOS:

### Muestras:

716 pooles de leche obtenidas de tambos de vacas Holando de un seguimiento de rutina.

### Pruebas serológicas:

PAL, realizado según los procedimientos internacionales;

IELISA utilizando un cut off de 23% para pool y

FPA siguiendo las instrucciones del kit comercial (Prionics) adaptado para muestras de leche. El FPA fue aplicado a leche fresca entera, leche entera refrigerada, leche congelada y suero de leche. Para tal fin fue usado un equipo analizador de polarización Diachemix Sentry 100 (lector de un solo tubo).

## RESULTADOS:

Si bien la prueba de FPA en leche fresca entera, de no mas de 8 hs de tomada y proveniente de tanques, da resultados muy similares a la IELISA (resultados coincidentes con los obtenidos por Nielsen et al), fue muy difícil obtener este tipo de muestras ya que siempre demoran en llegar al laboratorio. Cuando las mismas son recibidas, muchas ya están cortadas, por tal motivo solo fueron procesadas 20 muestras. Además, intentamos poner a punto el test utilizando leche congelada (fueron procesadas 50) pero dejamos de hacer este ensayo porque siempre obtuvimos resultados negativos (<90 mp) aún cuando daban positivo a las otras pruebas o en controles positivos. Con respecto al FPA utilizando leche conservada en refrigeración y suero de leche se obtuvieron los siguientes resultados:

62.1% fueron positivos a PAL, 74% positivos a IELISA, 24.8% y 55% fueron positivos a FPA (leche entera y suero de leche respectivamente) (Tabla 1).

**Tabla 1:** Resultados obtenidos en las pruebas serológicas.

Material	PAL		IELISA		FPA Leche conservada			
	Leche entera		Leche entera		Leche suero		Leche conservada	
Estatus	+	-	+	-	+	-	+	-
Total	445	271	530	186	393	323	178	538
%	62.1	37.9	74	26	55	45	27.8	72.2
Total	716	716	716	716	716	716	716	716

**CONCLUSIONES:** Los resultados de FPA, utilizando el suero de leche, mostraron tener mas coincidencia con los resultados de PAL, mientras que los resultados obtenidos cuando se utilizó leche entera no fueron satisfactorios, dando en muchos casos resultados no legibles por la calidad del material. Sin embargo, con base en este estudio preliminar, se concluye que la prueba de FPA, en suero de leche, ha dado resultados comparables a PAL, que es una técnica prometedora para el diagnóstico de la brucelosis bovina pero que se debe continuar realizando estudios para lograr encontrar el tratamiento de la misma que se adecue mejor a esta técnica. Los estudios actuales se orientan hacia la mejora de la calidad de la muestra para obtener resultados realmente representativos.

**REFERENCIAS:**

1. Samartino, L., Gregoret, R., Gall, D., Nielsen, K. Fluorescence polarization assay: Application to the diagnosis of bovine brucellosis in Argentina. J. Of Immunassay, 20 (3), 115-126. 1999.
2. Nielsen, K., Smith, D., Gall, D., Perez, B., Samartino, L., Nicoletti, P., Dajer, A., Rojas, X., Nelly, W. Validation of the fluorescence polarization assay for detection of milk antibody to *Brucella abortus*. J. Immunoassay 22: 203-211. 2001.
3. Gall, D, Nielsen, K., Bermudez, R., Moreno, F., Smith, P. Fluorescence Polarization Assay for Detection of *Brucella abortus*. Clin. Diag. Lab. Immuno. 1356-1360. 2002.