

USO DEL HAPTENO NATIVO DE *BRUCELLA MELITENSIS* PARA DIAGNOSTICAR BRUCELOSIS EN CABRAS POR MEDIO DE UNA PRUEBA SIMPLE, RÁPIDA Y DE ALTA ESPECIFICIDAD DE FLUORESCENCIA POLARIZADA.

USE OF THE *BRUCELLA MELITENSIS* NATIVE HAPTEN TO DIAGNOSE BRUCELLOSIS IN GOATS BY A RAPID, SIMPLE, AND SPECIFIC FLUORESCENCE POLARIZATION ASSAY.

Gómez-Flores, R. ¹, *Ramírez-Pfeiffer, C. ², Álvarez-Ojeda, C.², Díaz-Aparicio, E. ³, Rodríguez-Padilla, C.¹, Morales-Loredo, A.^{1,4} ¹Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolás de los Garza, N. L., México; ²Campo Experimental Río Bravo, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agrícolas

y Pecuarias, Río Bravo, Tam., México; ³Centro Nacional de Investigaciones Disciplinarias en Microbiología, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias, México D. F., México; ⁴Consorcio Técnico del Norte de México, Guadalupe Nuevo León, México.

carlosrami@gmail.com

Actualmente, de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana de la Campaña de Erradicación de la Brucelosis (NOM) se utiliza vacunación y el método de diagnóstico-sacrificio para el control de la enfermedad.

Debido a que las pruebas convencionales oficiales no discriminan anticuerpos vacunales de aquellos inducidos por infecciones de campo y por otras bacterias, se utiliza una prueba seriada con el fin de elevar la sensibilidad final del procedimiento diagnóstico; sin embargo, aún así un elevado número de cabras falsas positivas son sacrificadas innecesariamente. El procedimiento consiste en someter los sueros a una prueba de escrutinio, la prueba de tarjeta (PT) con 3% (PT3) de células en su antígeno ya que tiene mayor sensibilidad que la PT 8% usada en bovinos, y los sueros positivos son sometidos a confirmación con la prueba de fijación de complemento (FC).

Una alternativa surgió recientemente, la prueba de fluorescencia polarizada (FPA) que con un antígeno-marcador de la cadena O del polisacárido de *B. abortus* (BA) conjugado con isotiocianato de fluoresceína en bovinos ofrece resultados superiores a las otras pruebas utilizadas; sin embargo, otros estudios determinaron que sus resultados son inferiores en cabras de zonas de elevada prevalencia y con vacunación. Dado que las cabras son reservorio de *B. melitensis*, se creó la hipótesis de que un antígeno homólogo podría mejorar el desempeño de la prueba en cabras, por ello se preparó un antígeno-marcador a partir del hapteno nativo de la cepa Rev1 de *B. melitensis* (BM) y se evaluó su desempeño diagnóstico por medio de la FPA de acuerdo a los "Principios de Validación de Pruebas de Diagnóstico" de la Organización Mundial de Salud Animal. Así, en una primera etapa se compararon los antígenos BM y BA con sueros positivos a aislamiento y/o a PCR y sueros negativos de rebaños libres de brucelosis.

En una segunda etapa, se compararon BM, BA, PT3, PT8 y FC; para ello, las pruebas de ELISA indirecta y competitiva se usaron para seleccionar sueros caprinos obtenidos de zonas de alta prevalencia y vacunación. Y en una tercera etapa, con el fin de incrementar el desempeño del diagnóstico, se compararon pruebas en serie, confirmando los resultados positivos de la PT3 y PT8 con la FC, BM y BA. La CT y FC se realizaron conforme a la NOM, las ELISAs en el Laboratorio de Referencia de Brucelosis de la OIE en Ottawa, Canadá y la FPA conforme a lo descrito para bovinos con marcadores BM y BA.

En la primera etapa, la FPA con BM mostró mejor sensibilidad y especificidad (95.7% y 99%) que con BA (91.3%, 99%). En el segundo estudio, el desempeño diagnóstico de BM basado en la sensibilidad y especificidad relativas (85.7%, 91.9%) fue superior al de BA (79.4%, 89.3%), FC >1:8 (55.4%, 86.9%), PT3 (99.7%, 32.7%) y PT8 (81.1%, 68.4%).

En el último estudio, al usar BM, AB y FC (>1:8) para confirmar los positivos de PT3 (con especificidad de 32.75%), la especificidad final se incrementó a 94.5%, 91.2% y a 86.9%, respectivamente; y al confirmar los positivos de PT8 (con especificidad de 68.4%), incrementó a 96.3%, 94.7% y 94.7%, respectivamente.

Los resultados sugieren que, mientras que la PT3 y la PT8 tienen un desempeño muy pobre y por ello siempre deben confirmarse sus resultados con otra prueba, la FPA con BM es superior a BA y que ambos marcadores pueden ser utilizadas en lugar de la FC; y, que la FPA es una prueba de elección y que además de ser una prueba sencilla y rápida que no se afecta significativamente por

la vacunación, su uso podría reducir significativamente el número de cabras sacrificadas por un diagnóstico erróneo.

Referencias: *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 2008, 123:223–229; *Clinical and Vaccine Immunology*, 2008, 15:911–915.