

31. Salud Animal

Resultados preliminares de una nueva técnica diagnóstica de laboratorio para Anemia Infecciosa Equina

Espasandin, Ana Gabriela; Cipolini, María Fabiana; Díaz, Silvina; Forletti, Agustina; Storani, Carlos Alberto;

gabrielaespasandin59@gmail.com ; sil_diaz@hotmail.com ; fabicipo@yahoo.com ;

biotandil@biotandil.com.ar ; ladvco@gmail.com;

Facultad de Ciencias Veterinarias
Universidad Nacional del Nordeste

Resumen

La anemia infecciosa equina (AIE) es una enfermedad causada por un virus de la familia de los retrovirus, subfamilia lentivirinae, es específica de los équidos y la misma se presenta en todo el mundo. El objetivo de la presente comunicación fue comparar una nueva técnica diagnóstica para AIE basada en FPA, con la técnica de referencia internacional IDGA y establecer el grado de concordancia entre las mismas. Muestras de sangre entera de 248 equinos provenientes de establecimientos rurales de la provincia de Corrientes se procesaron en el laboratorio de Enfermedades Infecciosas de la Facultad de Ciencias Veterinarias. El diagnóstico de AIE se llevó a cabo por medio del Test de Coggins (IDGA), y por la técnica de Fluorescencia Polarizada (FPA), mediante el kit aportado por laboratorios BIOTANDIL® (Tandil, Argentina) para el ensayo de este trabajo. El análisis estadístico se llevó a cabo utilizando el programa de Win Episcope 2.0, y consistió en obtener el grado de acuerdo y el valor Kappa (acuerdo no debido al azar, $p=0.01$) entre ambas técnicas diagnósticas. Los porcentajes de positividad obtenidos para ambas técnicas fueron, 30,24% para FPA y 26,21% para IDGA, respectivamente. Los resultados obtenidos en ambas técnicas fueron para IDGA-/FPA- 171, IDGA+/FPA- 2, IDGA+/FPA+ 63, y IDGA-/FPA+ 12. El coeficiente Kappa con un nivel de confianza de 99% para la totalidad de la muestras resultó de 0,861, la concordancia es muy buena cuando oscilan entre 0,81 y 1,00. La técnica de FPA es una técnica que para su uso en el diagnóstico de AIE aún no está optimizada totalmente. No está establecido el punto de corte para definir el umbral diagnóstico y es necesario aumentar el número de muestras procesadas.

Palabras clave: Serología, Fluorescencia polarizada, Equinos..

Introducción

La anemia infecciosa equina (AIE) es una enfermedad causada por un virus de la familia de los retrovirus, subfamilia Lentivirinae, es específica de los équidos y la misma se presenta en todo el mundo. Cuando un animal se infecta este permanecerá en ese estado para toda la vida y puede transmitir la enfermedad a otros caballos sanos (OIE 2004, Craigo y col 2008, Sellon 1995)

El diagnóstico de AIE se realiza mediante técnicas serológicas. La técnica "Gold Standard" en la actualidad es el test de Coggins, creada por Leroy Coggins en 1970 y se realiza por medio de la técnica de Inmunodifusión en Gel de Agar (IDGA). Existen además diversas pruebas basadas en el Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas (ELISA), que si bien son más modernas y más sensibles resultan menos específicas que el Test de Coggins. Debido a que el ELISA puede presentar falsos positivos todo suero positivo a ELISA debe confirmarse utilizando el test de Coggins (OIE 2004; Soutullo 2008).

En la actualidad se están desarrollando nuevas técnicas diagnósticas para la detección de AIE, entre ellas el Ensayo de Fluorescencia Polarizada (FPA). El FPA es

una técnica simple y rápida para medir la interacción antígeno anticuerpo. A nivel internacional se emplea el FPA como método diagnóstico de la Brucelosis (OIE 2016). Para la detección de AIE fue desarrollado un FPA utilizando péptidos sintéticos (Tencza y col 2000; Juliarena y col 2006).

Objetivo

El objetivo de la presente comunicación fue comparar una nueva técnica diagnóstica para AIE basada en Fluorescencia Polarizada (FPA), con la técnica de referencia internacional (IDGA) y establecer el grado de concordancia entre las mismas.

Materiales y Métodos

Muestras de sangre entera de 248 equinos provenientes de establecimientos rurales de la provincia de Corrientes se procesaron en el laboratorio de Enfermedades Infecciosas de la Facultad de Ciencias Veterinarias. El diagnóstico de AIE se llevó a cabo por medio del Test de Coggins (IDGA), y por la técnica de Fluorescencia Polarizada (FPA), mediante el kit aportado por BIOTANDIL® (Laboratorio Biológico de Tandil SRL) para el ensayo de este trabajo (imágenes 1 y 2).

El análisis estadístico se llevó a cabo utilizando el programa de Win Episcope 2.0 (Thrusfield y col 2001), y consistió en obtener el grado de acuerdo y el valor Kappa (acuerdo no debido al azar, $p=0.01$) entre ambas técnicas diagnósticas; este parámetro está considerado como la proporción de resultados coincidentes positivos y negativos entre ambas pruebas.

Resultados y Discusión

Los porcentajes de positividad obtenidos para ambas técnicas fueron, 30,24% para FPA y 26,21% para IDGA, respectivamente. En la tabla N°1 se muestra la comparación de los resultados obtenidos con ambas técnicas.

El coeficiente Kappa con un nivel de confianza de 99% para la totalidad de la muestras resultó de 0,861. Para la interpretación del valor Kappa se toma como referencia una escala y se considera que la fuerza de concordancia entre técnicas diagnósticas es muy buena cuando los valores Kappa oscilan entre 0,81 y 1,00 (López de Ullibarri y Pita Fernández 2001).

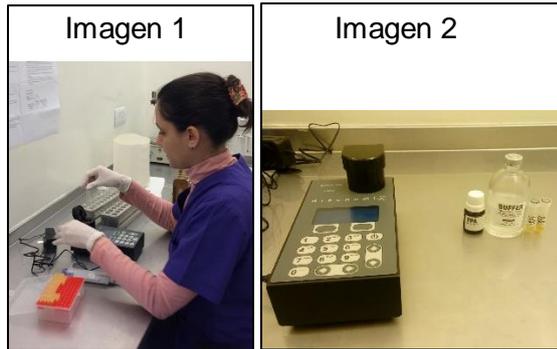
Tencza y col, (2000), realizaron ensayos con muestras de equinos para diagnóstico de AIE por medio de la técnica de diagnóstico de FPA. Los resultados demostraron que la reactividad de FPA se correlacionó con los resultados informados para IDGA en 106/106 muestras de suero negativas (100% de especificidad) y en

135/151 muestras de suero positivas (89,4% de sensibilidad). Por otra parte, Juliarena y col (2006) reportaron que la sensibilidad de la técnica de FPA para AIE fue del 89,4% al compararla con IDGA. Realizando una modificación en la configuración espacial del péptido sintético, estos autores obtuvieron una correlación del 100%.

En referencia a las ventajas de la aplicación de la técnica de FPA, en comparación con la IDGA, esta última demora 48-72 horas para obtener el resultado final, que es determinado por observación de un técnico; en cambio, el valor final de FPA es obtenido a partir de una medición por un equipo, y el resultado es obtenido en muy poco tiempo (Tencza y col 2000). La técnica de FPA aún no se ha optimizado totalmente para el diagnóstico de AIE. Es necesario aumentar el número de muestras procesadas para definir el punto de corte definitivo del ensayo de FPA para EIA en distintas situaciones epidemiológicas.

Tabla N°1 Comparación de los resultados obtenidos por las técnicas de FPA e IDGA.

Test	FPA -	FPA +	Total
Diagnóstico			
Coggins -	171	12	183
Coggins +	2	63	65
Total	173	75	248



Conclusiones

Se concluye que la técnica FPA para este ensayo reveló una muy buena concordancia, además de ser un diagnóstico rápido y sencillo para aplicar en forma rutinaria en el laboratorio.

Bibliografía

- Coggins L., Norcross NL. 1970. Reacción de inmunodifusión en la anemia infecciosa equina. *Cornell Vet*, v. 60, p. 330-335
- Juliarena M., Soto P., Luchessi E., Esteban E. 2006. Modificación espacial de un péptido-sintético para el diagnóstico por FPA de la infección por el virus de la anemia infecciosa equina. Congreso de Biolatina. Buenos Aires. Argentina.
- López de Ullibarri Galparsoro I, Pita Fernández, S. 2001. Medidas de concordancia: el índice de Kappa. *Unidad de Epidemiología Clínica y Bioestadística. Complejo Hospitalario-Universitario Juan Canalejo. Cad Aten Primaria*; 6: 169-171.
- Montelaro R.C., Ball J.M., Rushlow K.E., 1993. *Equine Retroviruses. The Retroviridae 2. Chater 5. Páginas 264-265.*

- Organización Mundial de la salud animal (OIE) 2004. Manual de las pruebas de diagnóstico y de las vacunas para los animales terrestres. Vol II. Anemia infecciosa equina. Capítulo 2.5.4.
- Sellon D.C. 1995. Equine Infectious Anemia. *Vet. Clin. North Am: Equine Pract*: 9,321-336.
- Soutullo A.R. 2008. "Study of the antigenic and immunogenic capacity of synthetic peptides corresponding to conserved epitopes of the structural proteins of the Equine Infectious Anemia Virus". Doctoral Thesis. National University of Litoral. Province of Santa Fe.
- Tencza S.B., Islam K.R., Kalia V., Nasir M.S, Jolley M.E., Montelaro R.C. May 2000 Development of a Fluorescence Polarization-Based Diagnostic Assay for Equine Infectious Anemia Virus *Journal of Clinical Microbiology*, p. 1854–1859 Vol. 38, No. 5
- Thrusfield M., Ortega C., de Blas I., Noordhuizen J.P., Frankena K. WIN EPISCOPE 2.0: improved epidemiological software for veterinary medicine. *Vet Rec.* 2001, 148(18):567-72.

Agradecimientos: Al Doctor Pedro Soto y el equipo de BIOTANDIL® por su acompañamiento, buena predisposición y aportes para realizar el trabajo.

