

Sanidad animal: Apoyo mundial para el diagnóstico de enfermedades infecciosas

Investigadores de todo el mundo usan los juegos de diagnóstico desarrollados en los Laboratorios del OIEA en Seibersdorf

por
Peter F. Wright

¿Qué aportan los animales domesticados al bienestar de la humanidad? Quizás lo primero que nos venga a la mente sean los alimentos: carne, aves y productos lácteos. Los animales también proporcionan otros materiales como, por ejemplo, la lana y el cuero. En algunas regiones del mundo, los animales de tiro aún desempeñan un papel importante y vital en el cultivo de la tierra y el transporte.

Sin embargo, varios factores pueden dañar la estabilidad y la salud de las poblaciones animales. Las condiciones ambientales desfavorables y la alimentación deficiente limitan gravemente la productividad animal, especialmente en el mundo en desarrollo. Los animales debilitados son los más vulnerables a las enfermedades.

La amenaza de las enfermedades infecciosas o contagiosas constituye una preocupación mundial. Esto lo atestigua el hecho de que la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), la Oficina Internacional de Epizootia (OIE) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) compilan y publican conjuntamente un compendio anual de las enfermedades que ocurren en sus estados miembros. El *Anuario de Sanidad Animal* incluye una lista de más de 140 enfermedades contagiosas que repercuten en mayor o menor grado en las esferas socioeconómica y zoonosana y en la salud pública, y abarca las principales enfermedades del ganado vacuno, ovino, caprino, caballar y porcino, así como de las poblaciones avícola, cunícola, piscícola, apícola, los moluscos y los crustáceos.

Enfermedades infecciosas

Las enfermedades infecciosas son provocadas por los microorganismos. La mayoría de las enfermedades de importancia para la veterinaria son causadas por agentes virales y bacterianos y por helmintos. Otras, en menor número, pero no menos importantes, son causadas por mycoplasmatales, rickettsias, protozoarios y otros agentes microbianos.

El Sr. Wright es Jefe de la Dependencia de Producción Pecuaria de los Laboratorios del OIEA en Seibersdorf.

Las consecuencias de una enfermedad infecciosa dependen de una serie de factores. Es obvio que las enfermedades que ocasionan la muerte en masa de animales adultos o jóvenes son muy graves. Algunas enfermedades afectan seriamente la reproducción natural, provocando la infertilidad o el aborto; otras pueden causar grandes pérdidas en la productividad desde el punto de vista de la calidad y la cantidad de los alimentos, los materiales producidos o el trabajo realizado. Las enfermedades zoonóticas amenazan la salud del ser humano cuando el agente infeccioso puede ser transmitido por los animales al hombre. La importancia de una enfermedad determinada dependerá de cómo se combinen los factores antes mencionados.

Las enfermedades infecciosas pueden transmitirse por diversas vías. En las secreciones corporales y los desechos de animales infectados están presentes algunos organismos en cantidades importantes, que pueden propagarse por contacto con la población o por contacto sexual. Algunos organismos pueden ser transportados a través de grandes distancias por las corrientes de aire o de agua antes de encontrar a un animal que pueda ser infectado. Otros pueden ser transmitidos por las madres a la progenie durante la gestación. Incluso hay otros que pueden transmitirse por picaduras de insectos. Algunos organismos pueden también infectar a otros huéspedes como, por ejemplo, los animales salvajes, que sirven de reservorios para la transmisión potencial de las enfermedades a los animales domesticados. Algunas enfermedades son muy difíciles de detener y erradicar según la vía de transmisión y los reservorios.

Diagnóstico definitivo

Muchas enfermedades infecciosas se presentan con síntomas clínicos similares, lo que dificulta mucho el diagnóstico preciso si no se pueden hacer análisis de laboratorio. Para hacer un diagnóstico definitivo de cualquier enfermedad infecciosa, es preciso comprobar e identificar directamente el agente causal encontrado en los tejidos o líquidos infectados.

Las técnicas de laboratorio que se usan de ordinario para aislar, cultivar e identificar los organismos emplean gran densidad de mano de obra y son muy costosas, a la vez que requieren un gran cúmulo de conocimientos especializados y equipo. Aunque son útiles para caracterizar y tipificar los microorganismos, estas técnicas no son aplicables como procedimiento de rutina para el diagnóstico en gran escala en cualquier laboratorio.

Los últimos progresos alcanzados en la biotecnología, como las técnicas de sondas de ácido nucleico, sin duda facilitarán en el futuro la identificación rápida y económica, pero en la actualidad aún se consideran técnicas en fase experimental.

Diagnóstico serológico

Desde el punto de vista inmunológico, los agentes infecciosos están compuestos por moléculas orgánicas de gran volumen que el animal identifica como extrañas o "no propias". Una característica del desarrollo de una reacción inmunológica contra estas moléculas orgánicas o antígenos es la producción de anticuerpos contra la multitud de antígenos característicos de un organismo determinado. Este repertorio de anticuerpos representa la primera línea de defensa de la inmunidad protectora.

Los anticuerpos tienen capacidad para enlazarse con antígenos que sólo se encuentran en microorganismos específicos. Como los anticuerpos sólo se producen cuando se encuentran con un antígeno extraño, la presencia de determinados anticuerpos es una señal de exposición a cierto organismo, o de infección. La detección de determinados anticuerpos en la sangre y otros fluidos corporales es la base del diagnóstico serológico.

Desde hace mucho más de medio siglo se vienen usando técnicas serológicas para el diagnóstico de presuntas enfermedades infecciosas. Se han concebido numerosos tipos de pruebas, unas mucho más complejas que otras. En el más general de los casos, los análisis serológicos pueden dividirse en dos grupos. Las pruebas serológicas clásicas dependen de los fenómenos que presentan los anticuerpos y se producen como consecuencia del enlace de un anticuerpo con un antígeno específico. Estos fenómenos incluyen la precipitación de los antígenos solubles, la aglutinación de las bacterias o los glóbulos rojos, la lisis de los glóbulos rojos o la neutralización de la infectividad del virus. Hoy día aún se usan muchas de estas técnicas clásicas para el diagnóstico, aunque están siendo reemplazadas gradualmente por una segunda generación de técnicas de análisis, conocidas como análisis de enlace primario.

Los análisis de enlace primario no son exactamente nuevos; de hecho existen desde hace más de 30 años. El enlace de un anticuerpo con un antígeno al nivel molecular no es fácilmente discernible. Sin embargo, cuando uno de los componentes de un sistema de análisis se "marca" con una molécula que produce una señal o un producto, entonces es posible detectar y medir el enlace antígeno-anticuerpo. Los primeros marcadores que se usaron fueron los radisótopos y los colorantes fluorescentes que podían enlazarse químicamente con anticuerpos o antígenos

purificados. Actualmente, algunos laboratorios todavía usan el radioinmunoanálisis y el fluoroinmunoanálisis. Por otra parte, está muy extendido el uso del inmunoanálisis enzimático, porque los reactivos marcados con enzimas son intrínsecamente más estables y no están asociados a problemas sanitarios ni de evacuación. Seleccionando substratos que producen una sustancia coloreada después de la degradación enzimática, podrá detectarse visualmente o medirse fotométricamente la reacción antígeno-anticuerpo que se produce durante el análisis. El inmunoanálisis enzimático se le conoce comúnmente como análisis ELISA. El término toma su nombre de la sigla de ensayo inmunosorbente por conjugados enzimáticos y fue acuñado hace más de 20 años, en la época en que empleó la técnica por primera vez.

Inmunoanálisis enzimático

El diagnóstico serológico no es siempre tan seguro como cabría pensar. Algunos antígenos presentes en distintos organismos son tan semejantes desde el punto de vista molecular que producen anticuerpos que reaccionan y dan resultados positivos falsos en cualquier análisis serológico. También se sabe que con ciertos tipos de anticuerpos hay más probabilidades de obtener resultados positivos falsos que con otros. El uso extendido de vacunas contra ciertas enfermedades también complica el diagnóstico serológico, ya que los antígenos de las vacunas también producirán anticuerpos que no podrán diferenciarse fácilmente de los anticuerpos que produzca la infección.

La mayoría de los principales laboratorios de investigaciones veterinarias del mundo trabajan activamente en el desarrollo y mejoramiento de reactivos para su uso en las técnicas de diagnóstico ELISA, en que es posible introducir mejoras, no así en las técnicas serológicas clásicas. Los progresos alcanzados en la biotecnología han tenido y seguirán teniendo gran repercusión en las técnicas ELISA. El uso de anticuerpos monoclonales muy específicos y de antígenos recombinantes muy definidos ya ha permitido mejorar el resultado de muchos diagnósticos realizados con esta técnica.

Programas de sanidad pecuaria

Las técnicas serológicas son el soporte de los programas de sanidad animal a escala mundial. Se usan en los estudios seroepidemiológicos para determinar la presencia o magnitud de una enfermedad infecciosa concreta en una población animal como asimismo en la vigilancia de los programas de lucha contra las enfermedades que puedan entrañar el estudio de los animales infectados y su sacrificio. Los programas de vacunación también incluyen la vigilancia serológica para determinar el número de animales que han sido vacunados, y si están respondiendo adecuadamente. Las técnicas serológicas se utilizan para impedir la propagación de enfermeda-

Laboratorios que colaboran en el desarrollo de las técnicas ELISA

Quince laboratorios de nueve países colaboran con el Laboratorio de Agricultura del OIEA en Seibersdorf en el desarrollo de las técnicas ELISA. Las enfermedades en que éstos se especializan aparecen entre paréntesis.

● **Reino Unido** — Institute for Animal Health, Pirbright (peste bovina, peste des petits ruminants, fiebre catarral ovina y fiebre aftosa); Centre for Tropical Veterinary Medicine, Edimburgo (tripanosomiasis); Central Veterinary Laboratory, Weybridge (brucelosis, rinotraqueitis infecciosa bovina)

● **Francia** — Institut national de la recherche agronomique, Nouzilly (brucelosis); Institut d'élevage et de médecine vétérinaire des Pays Tropicaux, Maisons-Alfort (peste bovina, peste des petits ruminants, pleuroneumonía contagiosa bovina)

● **Canadá** — Animal Diseases Research Institute, Nepean (brucelosis, fiebre catarral ovina, enfermedad de Aujeszky)

● **Australia** — Regional Veterinary Laboratory, Benalla (brucelosis, septicemia hemorrágica); Long Pocket Laboratories, Indooroopilly (babesiosis); Australian Animal Health Laboratory, Geelong (fiebre catarral ovina, enfermedad de Newcastle)

● **Dinamarca** — Instituto Nacional de Veterinaria, Copenhague (leucosis enzoótica bovina)

● **Brasil** — Centro Panamericano de Fiebre Aftosa, Río de Janeiro (fiebre aftosa)

● **Estados Unidos de América** — New York State College of Veterinary Medicine, Ithaca (rinotraqueitis infecciosa bovina); National Veterinary Service Laboratory, Ames, Iowa (brucelosis, fiebre catarral ovina)

● **Kenya** — Laboratorio Internacional de investigaciones sobre enfermedades de los animales, Nairobi (tripanosomiasis)

● **Suecia** — Instituto Nacional de Veterinaria, Uppsala (enfermedad de Aujeszky, leucosis enzoótica bovina)

des mediante el movimiento de animales infectados dentro y fuera del país.

Como la información serológica es tan decisiva para los programas de sanidad animal, es importante que los resultados de los análisis sean lo más precisos posible desde el punto de vista del diagnóstico. Para que un análisis sea fiable, los reactivos biológicos deben ser estables y la técnica, sólida. Para poderlo aplicar en gran escala, el análisis debe ser económico y rápido. Por eso el ELISA se ha convertido en el centro de atención de las actividades de investigación y desarrollo. Estas técnicas son muy apropiadas para el diagnóstico de laboratorio en los países desarrollados y en desarrollo.

Investigaciones de laboratorio y actividades de apoyo

El diagnóstico de las enfermedades infecciosas es una de las principales actividades de sanidad animal del programa de la División Mixta FAO/OIEA de Técnicas Nucleares en la Alimentación y la Agricultura. En los Laboratorios del OIEA en Seibersdorf,

la Dependencia de Producción Pecuaria del Laboratorio de Agricultura presta apoyo a este programa mediante el desarrollo y la distribución de juegos de ensayo para el diagnóstico (kits) creados para un fin determinado.

Para el diagnóstico de las enfermedades infecciosas, se suministran juegos ELISA a los laboratorios donde la serología forma parte de las actividades de investigación de enfermedades infecciosas específicas. (Además, en relación con otros problemas de la sanidad y la productividad pecuarias, el Laboratorio distribuye juegos de radioinmunoanálisis (RIA) para la medición de la hormona reproductora, la progesterona. Esta hormona se emplea en el estudio y la vigilancia de los ciclos reproductivos del ganado vacuno, ovino, caprino, de los búfalos y de los camélidos, como un medio de mejorar la reproducción. En 1991 solamente, se suministraron más de 300 juegos RIA (aproximadamente 125 000 mediciones analíticas, a unos 60 laboratorios de contrapartida de África, Asia y América Latina.)

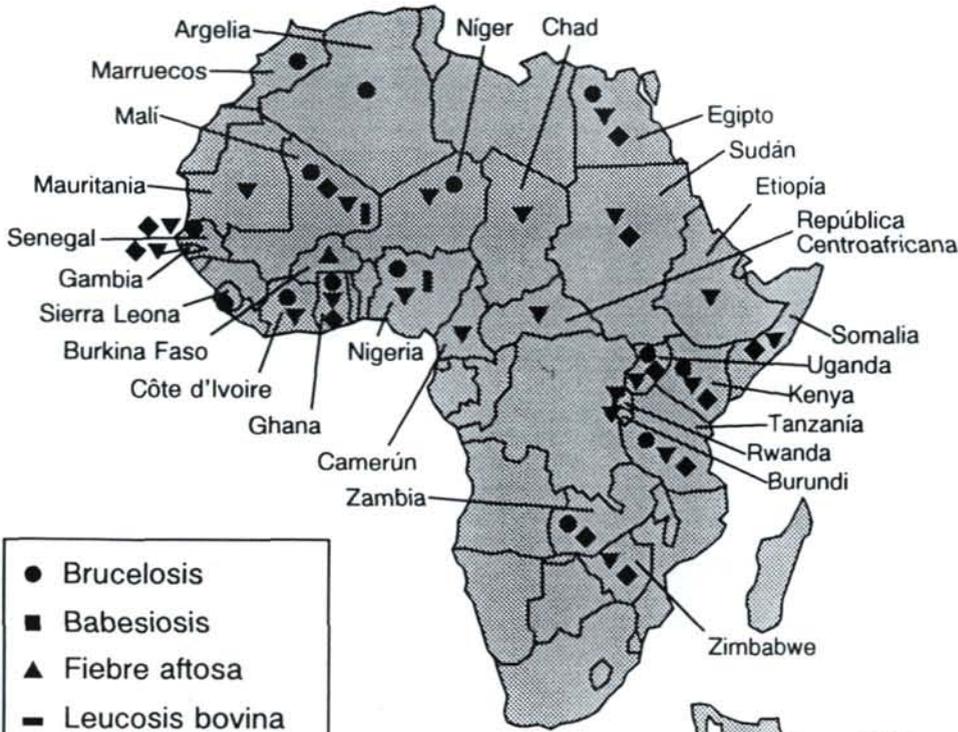
Durante los últimos seis años, se ha dado prioridad a las enfermedades infecciosas del ganado. En un futuro próximo, también se prevé crear juegos ELISA para determinadas enfermedades avícolas y porcinas.

La Dependencia de Producción Pecuaria del OIEA no realiza las investigaciones iniciales para la creación de los reactivos de diagnóstico mediante las técnicas ELISA, sino que adapta los reactivos y las técnicas ELISA existentes para darles un formato de juego (kit) apropiado para los laboratorios de contrapartida de los países en desarrollo. Para lograr esto, la Dependencia necesita mucho la colaboración de los principales laboratorios de investigaciones veterinarias del mundo. En la actualidad, hay 15 laboratorios que colaboran activamente en el desarrollo de juegos ELISA y en el suministro de reactivos. (Véase el recuadro.)

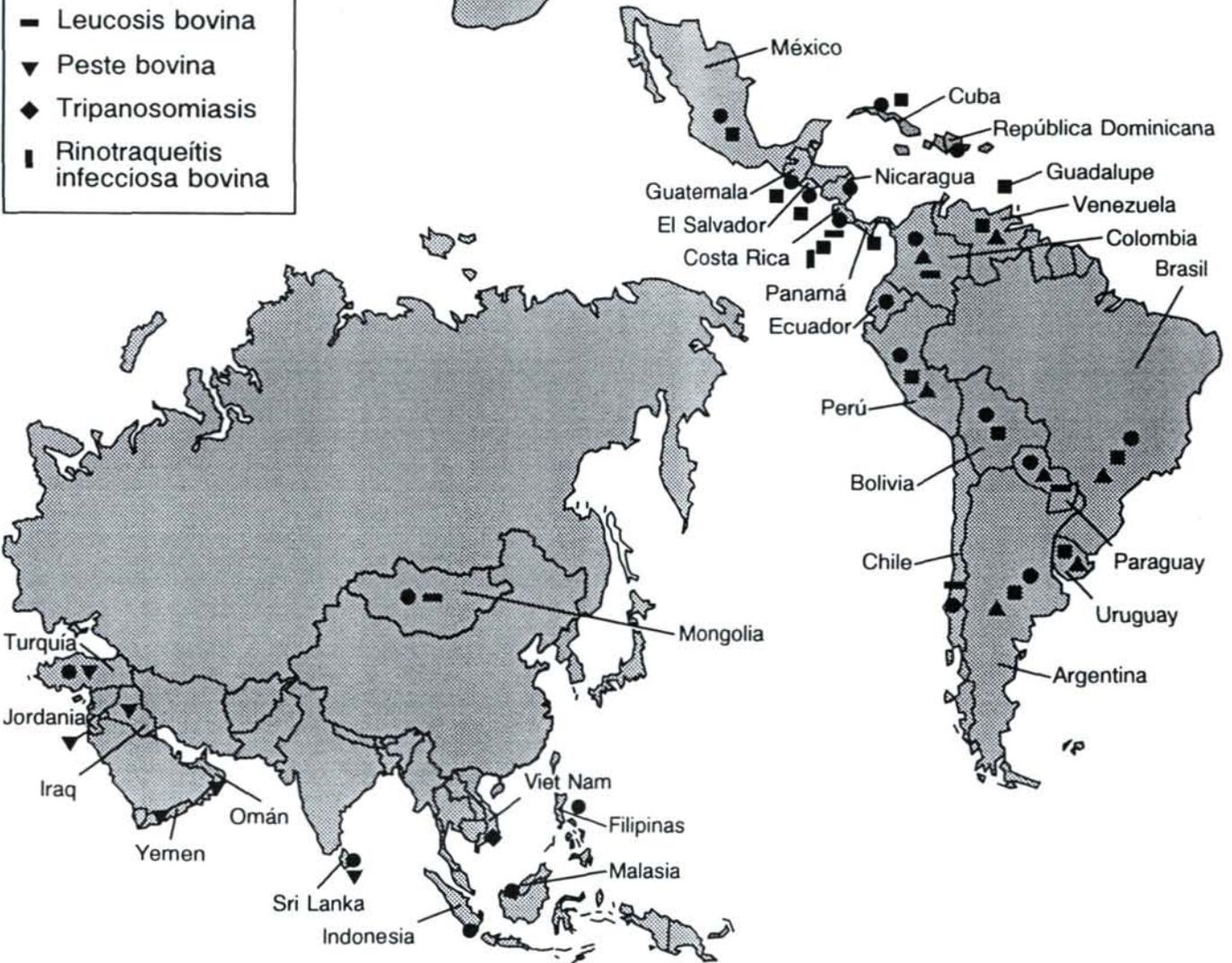
La normalización y el control de calidad son los elementos fundamentales para la creación de estos juegos, ya que son esenciales para lograr la uniformidad del diagnóstico en los laboratorios y entre éstos. Se han elaborado directrices pormenorizadas en que se describen las necesidades de equipo, la preparación y el almacenamiento de los reactivos, los procedimientos de análisis, las actividades de control de calidad, los criterios de aceptación de los datos, la interpretación de los resultados y la solución de los problemas.

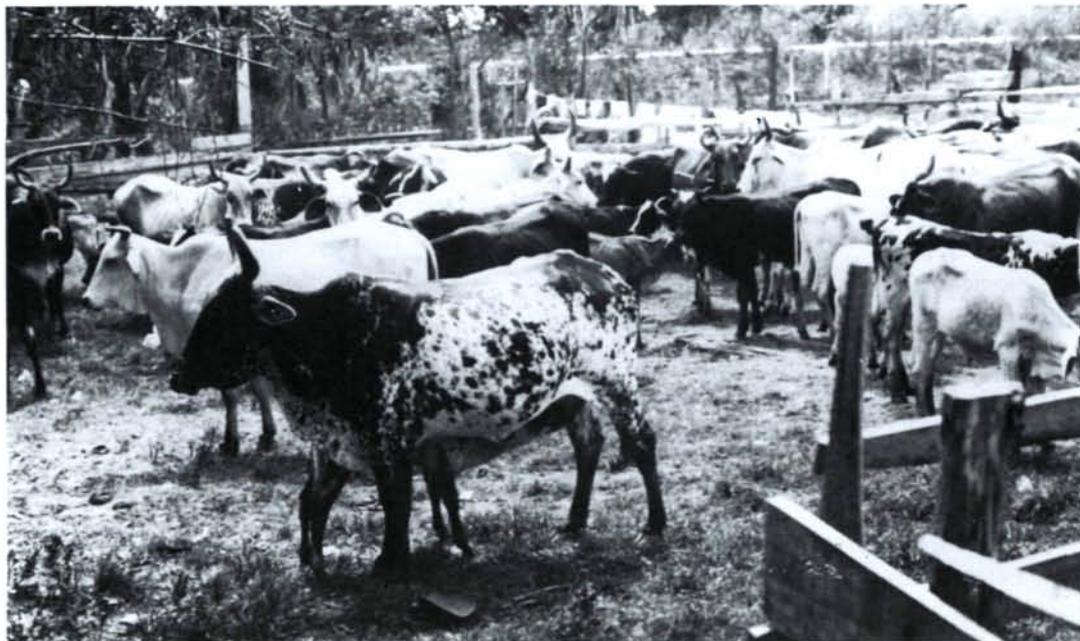
Todos los prototipos de juegos ELISA tienen que ser validados desde el punto de vista del diagnóstico antes de ser considerados listos para su distribución a los laboratorios de contrapartida. La validación se logra comparando el comportamiento del juego con la mejor técnica serológica que existe actualmente para el análisis de determinados conjuntos de muestras. Para obtener una evaluación imparcial y crítica del comportamiento del juego, se hace la validación en colaboración con laboratorios especializados.

Tan pronto un juego ELISA es normalizado y validado, se considera listo para su producción y distribución a los laboratorios de contrapartida. La transferencia de la tecnología de juegos de ensayo requiere la capacitación del personal del laboratorio receptor en el uso de éstos y del instrumental, así



Investigadores de sanidad pecuaria de unos 75 laboratorios de América Latina, África, Asia y el Pacífico usan los juegos de ensayo para el diagnóstico desarrollados por los Laboratorios del OIEA en Seibersdorf, Austria.





Animales "lecheros"
típicos en el Perú.

como en la interpretación de los datos de control de calidad y análisis. La función principal de la Dependencia a este respecto es prestar asistencia técnica a la División Mixta FAO/OIEA en la capacitación.

A menudo, los laboratorios de contrapartida requerirán apoyo técnico para resolver los problemas locales que afecten el comportamiento del juego de ensayo, como por ejemplo, el mal funcionamiento del equipo, el deterioro del reactivo, o la mala calidad del agua. Probablemente la calidad del agua sea el elemento más importante, ya que todas las técnicas serológicas necesitan soluciones tampón acuosas para la preparación de los reactivos y los procedimientos de análisis. La Dependencia elabora sistemas de identificación de dificultades para ayudar a los científicos de contrapartida a resolver los problemas locales por sí mismos. También brinda un servicio de reparación de equipo en colaboración con la Dependencia de Instrumentos de los Laboratorios del OIEA en Seibersdorf.

La creación de sistemas de control de calidad externos es la última de las funciones de apoyo que cumplen estos juegos. Las actividades de rutina se complementan con análisis periódicos de grupos de muestras para comprobación externa que se verifican "a ciegas" en laboratorios de contrapartida (es decir, sin conocer previamente la reactividad de la muestra). Esto garantiza la verificación imparcial del análisis y del trabajo técnico realizado. El éxito en el análisis de este tipo de grupos de muestras fomenta la confianza en los homólogos y sirve de base para la aceptación internacional de los datos.

Se han creado juegos ELISA para el análisis de los anticuerpos de las principales enfermedades del ganado: peste bovina, brucelosis, babesiosis, leucosis bovina y rinotraqueítis bovina infecciosa. Se han concebido otros para los antígenos de la fiebre aftosa, la tripanosomiasis y la septicemia hemorrágica. Estos últimos juegos se emplean para la detección de antígenos y no de anticuerpos, y se usan para el diag-

nóstico definitivo. A punto de ser terminados están los juegos ELISA para la detección de los anticuerpos de la fiebre catarral ovina y la pleuroneumonía contagiosa bovina. En un futuro próximo, se comenzarán a desarrollar juegos para la enfermedad de Aujeszky (cerdos) y la enfermedad de Newcastle (aves).

En el transcurso de 1992, se enviaron más de 100 juegos (aproximadamente 0,6 millones de dosis de análisis) a unos 75 laboratorios de contrapartida de todo el mundo. (Véanse los mapas.)

Compromiso internacional

Como las enfermedades infecciosas constituyen una preocupación mundial, se han establecido vínculos de colaboración con la FAO, la OMS y la OIE para la normalización internacional de las técnicas y los reactivos ELISA y su aplicación en los programas de lucha, erradicación y vigilancia a escala mundial.

En 1992, la Dependencia de Producción Pecuaria de los Laboratorios del OIEA en Seibersdorf fue designada oficialmente Centro FAO/OIEA de técnicas moleculares y ELISA para el diagnóstico de enfermedades de los animales y Centro de Colaboración con la OIE para los Métodos de Diagnóstico Inmunoenzimático y Molecular.

Estas designaciones entrañan un compromiso con las actividades de normalización internacional que benefician tanto a los países industrializados como a los países en desarrollo.