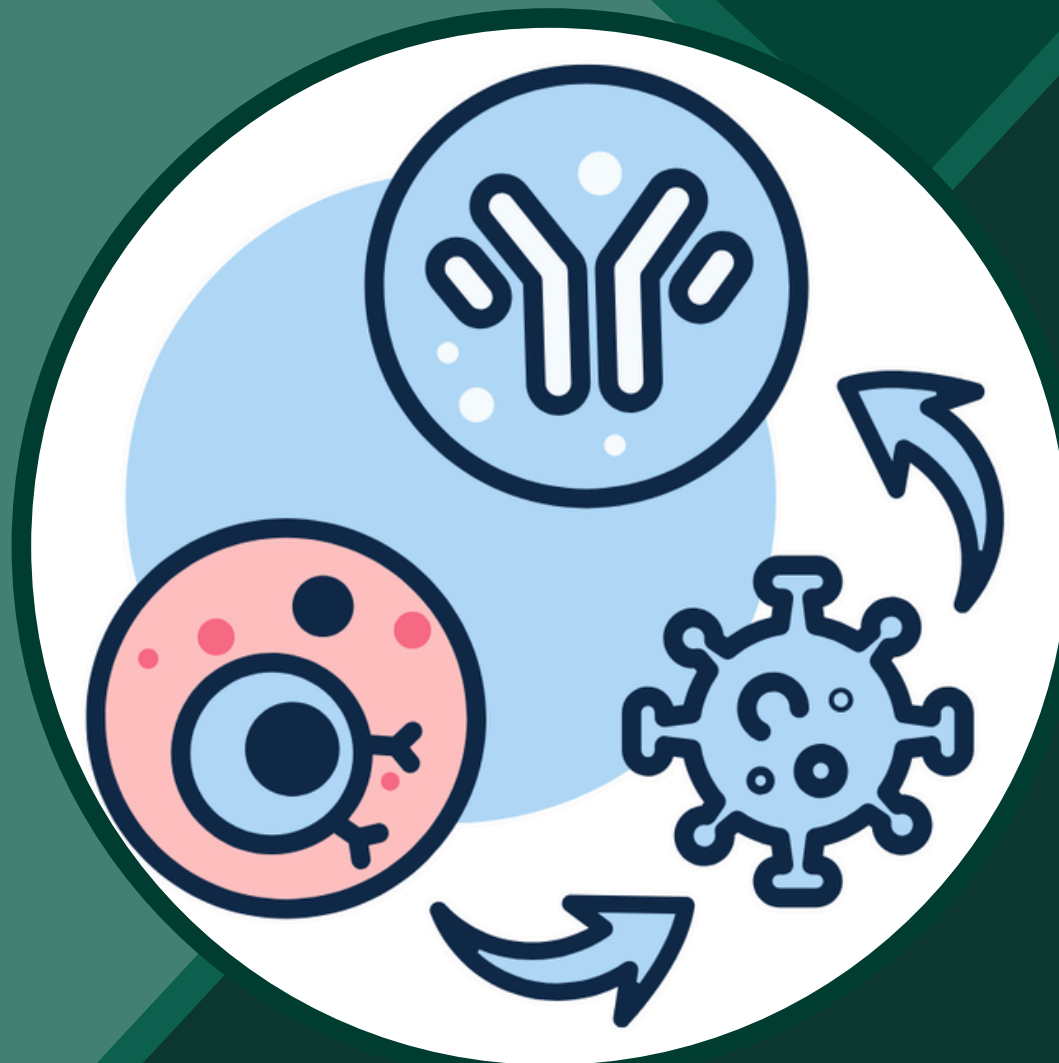
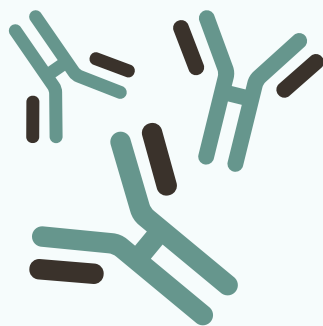


SEROLOGÍA: FUNDAMENTOS E INTERPRETACIÓN PRÁCTICA PARA EL DIAGNÓSTICO Y CONTROL DE ENFERMEDADES



UTILIDAD DE LOS ESTUDIOS SEROLÓGICOS

- 1 Detectar la enfermedad** (presencia de al menos un animal enfermo)
- 2 Calcular la prevalencia** (el porcentaje de animales enfermos)
- 3 Calcular la incidencia** (tasa de nuevas infecciones a través de chequeos seriados en animales previamente negativos)
- 4 Valorar si el patógeno está implicado en el proceso clínico** (estableciendo correlaciones estadísticas entre seropositividad y presencia de enfermedad)
- 5 Control y/o erradicación de enfermedades** (sacrificio o segregación de animales positivos)
- 6 Protocolos preventivos** (análisis de animales de nueva incorporación al rebaño o el mantenimiento de 'poblaciones centinela' que permita una detección precoz de la entrada de un patógeno)



- La **técnica ELISA** (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) es un **método de inmunoensayo** ampliamente utilizado para **detectar y cuantificar antígenos o anticuerpos específicos** en una muestra.
- Esta técnica se basa en la **interacción específica entre un anticuerpo y un antígeno**, utilizando **enzimas conjugadas** para producir una **señal** detectable, generalmente un **cambio de color**.

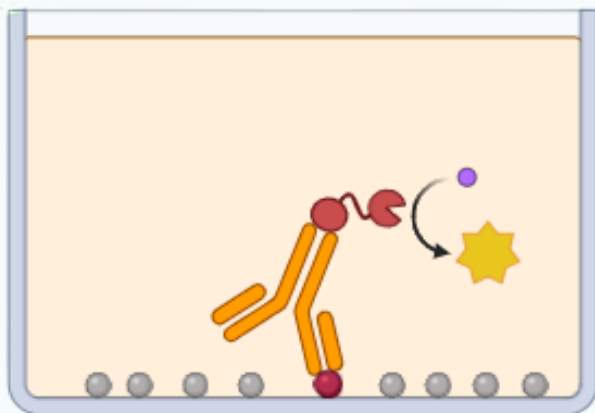


PRINCIPIOS FUNDAMENTALES

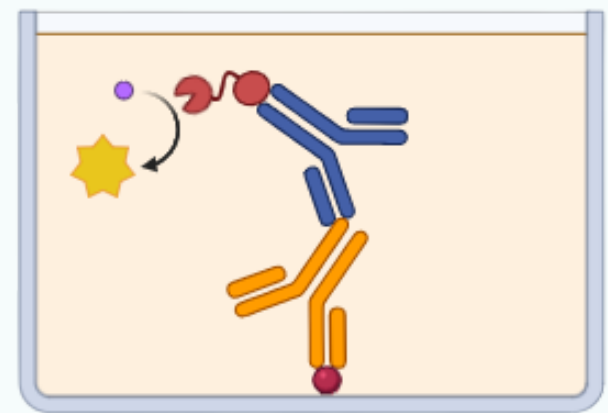
- 1 Interacción antígeno-anticuerpo:** ELISA aprovecha la especificidad de los anticuerpos para reconocer y unirse a antígenos particulares.
- 2 Inmovilización:** Los antígenos o anticuerpos se inmovilizan en una superficie sólida, comúnmente una placa de microtitulación de 96 pocillos.
- 3 Enzimas conjugadas:** Se utilizan enzimas unidas a anticuerpos o antígenos para catalizar una reacción detectable.
- 4 Detección cuantitativa:** El cambio de color resultante se mide con un espectrofotómetro, permitiendo la cuantificación del antígeno o anticuerpo en la muestra.

TIPOS PRINCIPALES DE ELISA

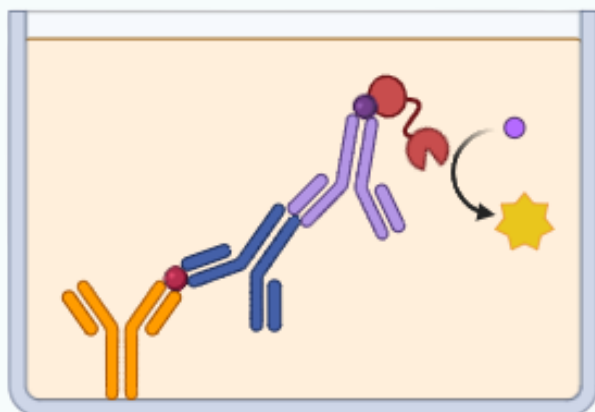
- 1 ELISA directo:** El antígeno se inmoviliza directamente en la superficie y se detecta con un anticuerpo conjugado con enzima



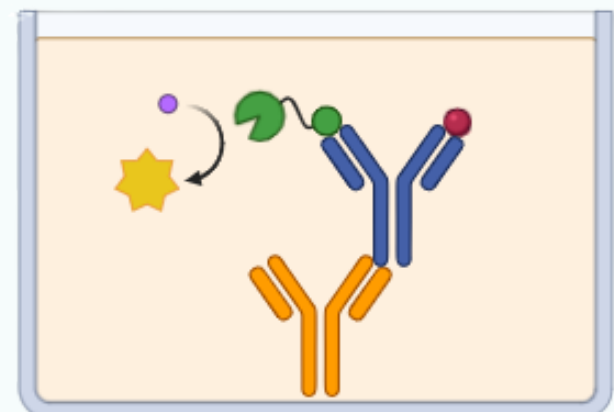
- 2 ELISA indirecto:** Utiliza un anticuerpo primario no marcado y un anticuerpo secundario conjugado con enzima



- 3 ELISA tipo sándwich:** Emplea dos anticuerpos específicos para "capturar" y detectar el antígeno



- 4 ELISA competitivo:** Se basa en la competencia entre el antígeno de la muestra y un antígeno marcado por la unión al anticuerpo



CÁLCULO DEL RESULTADO

- Tras la **lectura colorimétrica**, el equipo arroja para cada muestra un **valor numérico** denominado “**densidad óptica**”.
- El **cálculo del resultado de una muestra** concreta se realiza en base a los **resultados del control positivo**, del **control negativo** o, normalmente, de **ambos**.

- En los **ELISA indirectos**, normalmente se calcula el **cociente** entre la densidad óptica de la **muestra** y la densidad óptica del **control positivo**, de forma que la **positividad de la muestra** es **directamente proporcional al valor numérico** que aparece en el informe de **resultados**.

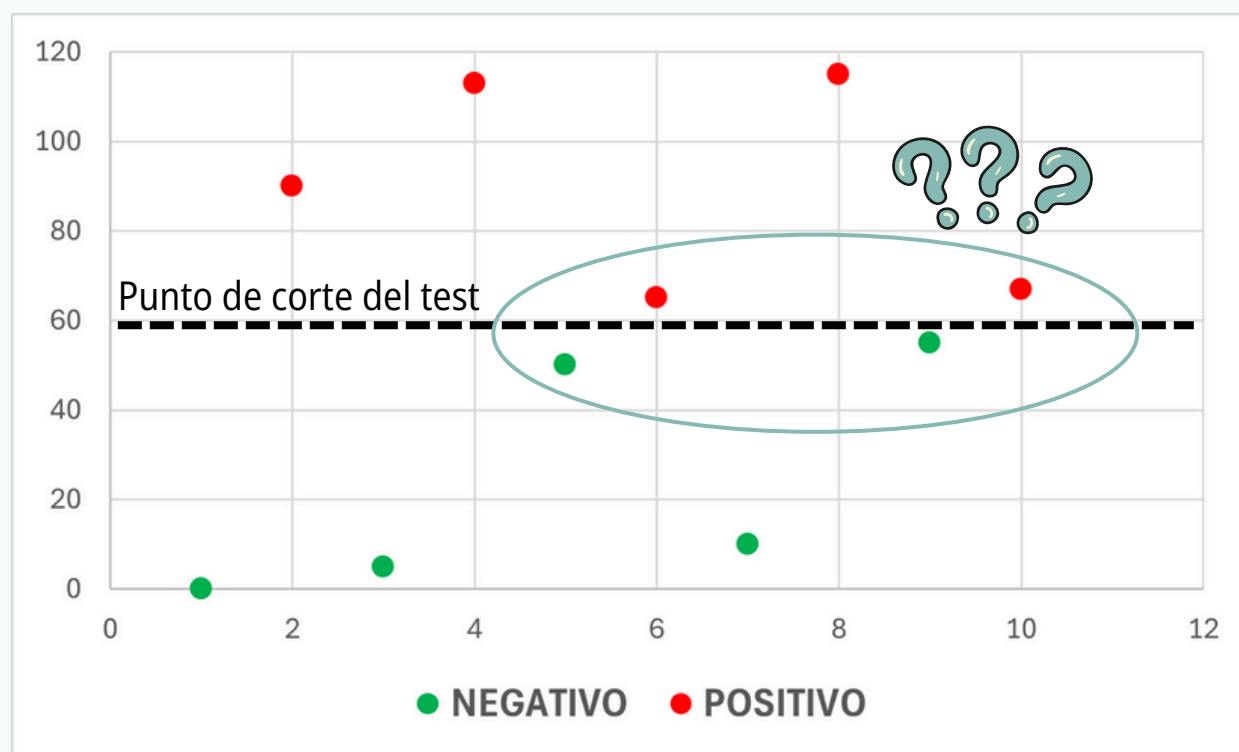
$$\uparrow \text{VALOR} = \uparrow \text{POSITIVIDAD}$$

- En los **ELISA de competición** suele ser al revés. El valor final del ELISA o “porcentaje de inhibición” se calcula en base al **cociente** entre la densidad óptica de la **muestra** y la densidad óptica del **control negativo**, por lo que el **resultado** final o índice de ELISA es **inversamente proporcional** a la **cantidad de anticuerpos** que tiene ese animal en sangre.

$$\uparrow \text{VALOR} = \downarrow \text{POSITIVIDAD}$$

¿ANIMAL POSITIVO O NEGATIVO?

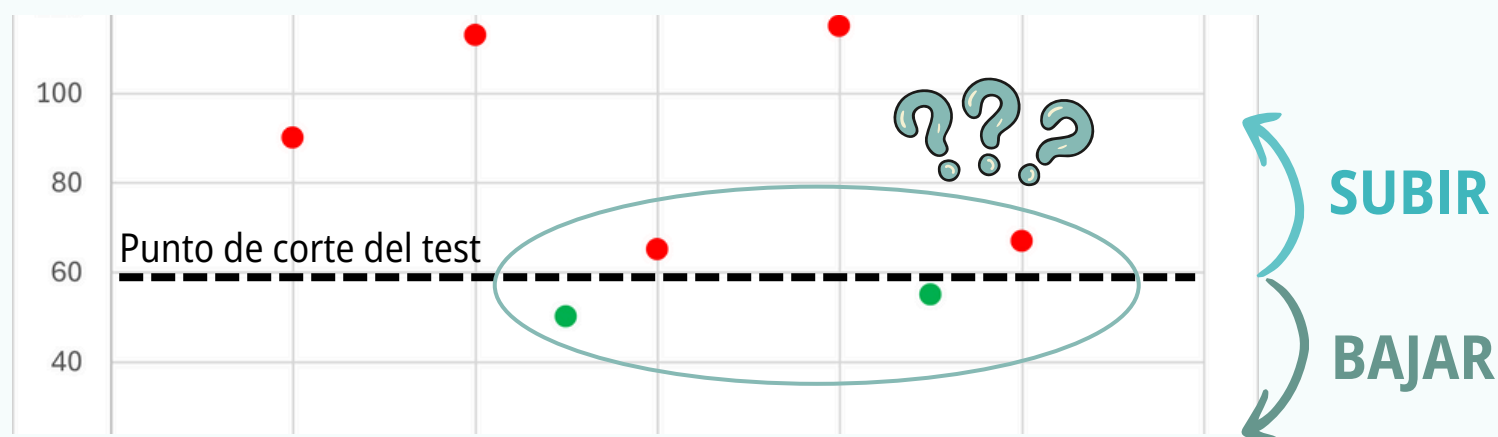
- Después de obtener un resultado numérico en el ELISA, resta **calificar** a los **animales** como **positivos o negativos**, lo cual se realiza en función de un **“punto de corte”**, valor **por encima** del cual se considera **positiva** a la muestra y **por debajo** del cual se considera **negativa**.
- Si el laboratorio informa **únicamente** del **resultado positivo o negativo** pero **no facilita el valor numérico del ELISA** ni el **punto de corte del test**, el clínico desconocerá qué **animales están muy cerca del punto de corte**, por encima o por debajo, individuos que corren un mayor riesgo de quedar mal calificados: **individuos enfermos** que son **negativos** y **sanos** que son **positivos**, denominados **“falsos negativos”** y **“falsos positivos”** respectivamente.



¿SUBIR O BAJAR EL PUNTO DE CORTE?

En los resultados de un informe, el **punto de corte** viene establecido por el laboratorio, pero el **veterinario clínico**, puede **desplazarlo** a voluntad, **bajándolo para aumentar la sensibilidad** (probabilidad de que un enfermo sea detectado) o **subiéndolo para aumentar la especificidad** (probabilidad de que un sano sea negativo), en función de los intereses concretos establecidos para el control sanitario de un determinado proceso.

- Puede interesar **bajar algo el punto de corte** en **estudios de 'screening'** o en **programas de erradicación** en los que dejar animales positivos supone una pérdida grave de eficacia en ese plan, por ejemplo ante una **elevada contagiosidad**.
- Puede interesar **subir el punto de corte** en **estudios de verificación** donde interesa saber si un animal está realmente infectado, en **planes de control a largo plazo** y **planes no estrictos** o en enfermedades de **baja contagiosidad** que suponen el sacrificio de positivos, especialmente si los animales tienen un alto valor económico.



CAUSAS DE FALSOS NEGATIVOS Y POSITIVOS

● FALSOS NEGATIVOS: Animales **enfermos** **seronegativos**

- Animales **inmunodeprimidos** en fases terminales de enfermedad
- Animales que nacen infectados sin capacidad de generación de anticuerpos (**inmunotolerancia congénita**).
- Animales en **fase muy precoz de la enfermedad**, en la que aún no hay producción de IgG detectables.
- **Fase de negatividad serológica** que puede alargarse durante meses o años en enfermedades como la Paratuberculosis.
- Animales **infectados crónicamente** en los que hay periodos de baja exposición inmune al patógeno y descenso de los anticuerpos circulantes en sangre.





CAUSAS DE FALSOS NEGATIVOS Y POSITIVOS



● FALSOS POSITIVOS: Animales **sanos seropositivos**

- Animales con presencia en sangre de **anticuerpos vacunales**, normalmente indistinguibles de los anticuerpos generados por la infección natural.
- Animales con presencia en sangre de **anticuerpos calostrales**. Es necesario mantener un periodo de espera desde el nacimiento hasta los 4-6 meses a fin de garantizar que los anticuerpos detectados no tengan un origen materno.
- En función de la patogenia de los distintos microorganismos, hay agentes que infectan a un animal para toda la vida, y por lo tanto la positividad siempre está ligada a la infección (Paratuberculosis, CAEV, IBR, Neospora), otros que producen **infecciones agudas pasajeras** y por tanto generan **anticuerpos** que pueden perdurar indefinidamente **sin estar ligados a la existencia de infección** (Toxoplasma, Virus Border, BVD) y otros en los que es difícil saber si ha existido resolución de la infección o cronicidad sin recurrir a otras técnicas diagnósticas (Agalaxia Contagiosa, Fiebre Q).

EJEMPLO 1

Serología con un punto de corte de 60. Se detectan animales con **valores positivos muy altos** y otros con **valores negativos muy bajos**. Sin embargo, el **animal nº 5** es negativo con un índice de ELISA de 52,4 **rozando el punto de corte** y **alejado del valor promedio del resto de animales negativos**. En buena lógica, es un **animal altamente sospechoso de estar infectado**. En menor medida, también sería recomendable repetir el análisis transcurridas varias semanas en los animales nº 9 y 15.

Muestra	Valor ELISA	Calificación PC=60	Muestra	Valor ELISA	Calificación PC=60
1	0,1	Negativo	11	0,3	Negativo
2	94,2	Positivo	12	-3,1	Negativo
3	3,6	Negativo	13	-1,9	Negativo
4	168,9	Positivo	14	285,6	Positivo
5	52,4	¿Negativo?	15	48,7	¿Negativo?
6	-2,6	Negativo	16	3,8	Negativo
7	66,5	Positivo	17	1,1	Negativo
8	1,2	Negativo	18	-1,4	Negativo
9	28,3	¿Negativo?	19	0,6	Negativo
10	0,9	Negativo	20	2,2	Negativo



EJEMPLO 2

Serología con un punto de corte de 50. **Búsqueda de animales seropositivos** de entre **6 y 12 meses de edad** con el fin de **confirmar la circulación reciente de un virus en el rebaño**. Si hay animales seropositivos, se puede tener la convicción de que el virus ha estado en el rebaño al menos en los últimos doce meses. Se detectan **tres animales positivos**, lo que permite una conclusión altamente fiable de que el **virus ha circulado en el rebaño**.

Muestra	Valor ELISA	Calificación PC=50	Muestra	Valor ELISA	Calificación PC=50
1	0,1	Negativo	11	0,3	Negativo
2	3,1	Negativo	12	-3,1	Negativo
3	3,6	Negativo	13	-1,9	Negativo
4	98,2	Positivo	14	99,3	Positivo
5	2,4	Negativo	15	48,7	Negativo
6	2,6	Negativo	16	3,8	Negativo
7	87,5	Positivo	17	1,1	Negativo
8	1,2	Negativo	18	-1,4	Negativo
9	28,3	Negativo	19	0,6	Negativo
10	0,9	Negativo	20	2,2	Negativo

EJEMPLO 3

Serología con un punto de corte de 50. Serología en **animales vacunados hace 3 meses** (1-10) y en **animales “testigo” no vacunados** (11-20). Los primeros muestran **valores positivos muy altos** y los segundos son **todos negativos**. Se concluye que la **positividad es de origen vacunal** y que sugiere una **correcta inmunización**, así como la **probable no circulación del patógeno** en el lote chequeado. Es muy interesante **mantener poblaciones centinela sin vacunar** para poder realizar chequeos periódicos y valorar si hay o no circulación de un patógeno en el rebaño.

Muestra	Valor ELISA	Calificación PC=50	Muestra	Valor ELISA	Calificación PC=50
1	286,0	Positivo	11	0,3	Negativo
2	240,3	Positivo	12	-3,1	Negativo
3	160,6	Positivo	13	-1,9	Negativo
4	168,9	Positivo	14	3,3	Negativo
5	248,3	Positivo	15	1,0	Negativo
6	222,1	Positivo	16	3,8	Negativo
7	246,3	Positivo	17	1,1	Negativo
8	189,0	Positivo	18	-1,4	Negativo
9	42,0	Negativo	19	0,6	Negativo
10	199,9	Positivo	20	2,2	Negativo

EJEMPLO 4

Serología con un punto de corte de 50. Serología en **animales vacunados hace 2 años** (1-10) y en **animales “testigo” no vacunados** (11-20).

Detectamos **dos animales positivos en el grupo centinela**, con valores altos, lo que es un indicio firme de que ha habido **circulación del patógeno**. En el **grupo de vacunados**, hay una mayoría de **animales positivos** con **índices relativamente bajos** y varios con **valores muy altos**. Se puede manejar la hipótesis de que éstos últimos han tenido probablemente una **infección natural**, y en el resto la positividad tiene un **origen vacunal residual**.

Muestra	Valor ELISA	Calificación PC=50	Muestra	Valor ELISA	Calificación PC=50
1	66,0	Positivo	11	0,3	Negativo
2	240,3	Positivo	12	123,3	Positivo
3	68,3	Positivo	13	-1,9	Negativo
4	51,1	Positivo	14	3,3	Negativo
5	48,2	Negativo	15	1,0	Negativo
6	36,7	Negativo	16	3,8	Negativo
7	246,3	Positivo	17	284,8	Positivo
8	66,6	Positivo	18	-1,4	Negativo
9	42,0	Negativo	19	0,6	Negativo
10	51,1	Positivo	20	2,2	Negativo

¿Necesitas realizar análisis
serológicos?

**¡ NO DUDES EN
CONTACTARNOS !**



 analitica@analiticaveterinaria.com

 +34 946 74 42 51

 Aritz bidea, 18 bajo, 48100 Mungia, Bizkaia

 www.analiticaveterinaria.com

