

# DETECCIÓN DE ANTICUERPOS anti-*Mycobacterium bovis* EN SANGRE Y CALOSTRO BOVINO

Ruiz Menna VA<sup>1</sup>, Garro C<sup>1</sup>, Felippa E<sup>2</sup>, Abdala A<sup>3</sup>, Suarez Archilla G<sup>3</sup>, Sammarruco AR<sup>1</sup>, Delgado F<sup>1</sup>, Garbaccio SG<sup>1</sup>.

1: Instituto de Patobiología (IP-IPVet UEDD INTA-CONICET), INTA, Hurlingham, Buenos Aires, Argentina. 2: Asesor privado. 3: IDiCaL (INTA-CONICET) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, EEA INTA Rafaela, Santa Fe, Argentina.

## Introducción

La tuberculosis bovina (TB) es una enfermedad endémica causada principalmente por *Mycobacterium bovis*. La respuesta inmune es predominantemente celular, siendo la intradermorreacción (IDR) la prueba diagnóstica de referencia. Estudios previos han reportado una baja o ausente respuesta inmune humoral en la etapa inicial de la infección, incrementándose con el avance de la enfermedad (1-4). Estos animales denominados anérgicos (5) podrían ser detectados a través del test de ELISA, mediante el dosaje de anticuerpos anti-*Mycobacterium bovis* (a-Mb), proponiendo dicha técnica como complemento diagnóstico de la IDR. Generalmente el test de ELISA se realiza a partir de suero sanguíneo (1, 6), sin embargo, otros estudios describen la posibilidad de un dosaje en calostro (7). Un trabajo realizado en otra micobacteriosis (Enfermedad de Johne o Paratuberculosis), reportó en calostro una sensibilidad diagnóstica 5 veces mayor a la registrada en el suero del mismo animal (7).

El objetivo de este estudio fue evaluar la presencia de a-Mb en muestras de sangre y calostro.

## Materiales y Métodos

Fue seleccionado un establecimiento lechero perteneciente a la provincia de Córdoba con antecedentes de TB. Se analizaron 38 bovinos totales. Los criterios para establecer los grupos de estudio se basaron en los resultados de IDR, conformando dos grupos: 19 bovinos reactivos y 19 negativos. En cada uno de ellos se colectaron 2 tipos de muestras; sangre y calostro dentro de las 12 hs post parto, sin considerar el efecto booster de la IDR aplicada de rutina. Posteriormente se centrifugaron durante 20 minutos a 3200 rpm las muestras de calostro y a 4000 rpm las de sangre. Para el calostro, se eliminó la capa lipídica y se recolectó 1.5ml de sobrenadante. Para las muestras de sangre se recolectó 1ml de suero. A partir de ambas muestras se realizó un test ELISA indirecto puesto a punto previamente en el laboratorio, utilizando como matriz antigénica un derivado puro proteico de *Mycobacterium bovis* (8).

## Resultados

En los bovinos evaluados ( $n = 38$ ), como se puede observar en la Fig. B, no hubo diferencias significativas entre los valores de densidad óptica observados al ELISA entre calostro y suero sanguíneo, (Wilcoxon.Mann-Whitney  $P = 0,12$ ).

En la Fig. C, se puede observar la comparación entre animales IDR+ e IDR-. Al comparar por grupos, la proporción de positivos al ELISA en calostro (23% conformado por: 5 IDR- y 3 IDR+) fue superior a los observados en el suero sanguíneo (10%: 3 IDR- y 1 IDR+), aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa.

## Conclusiones

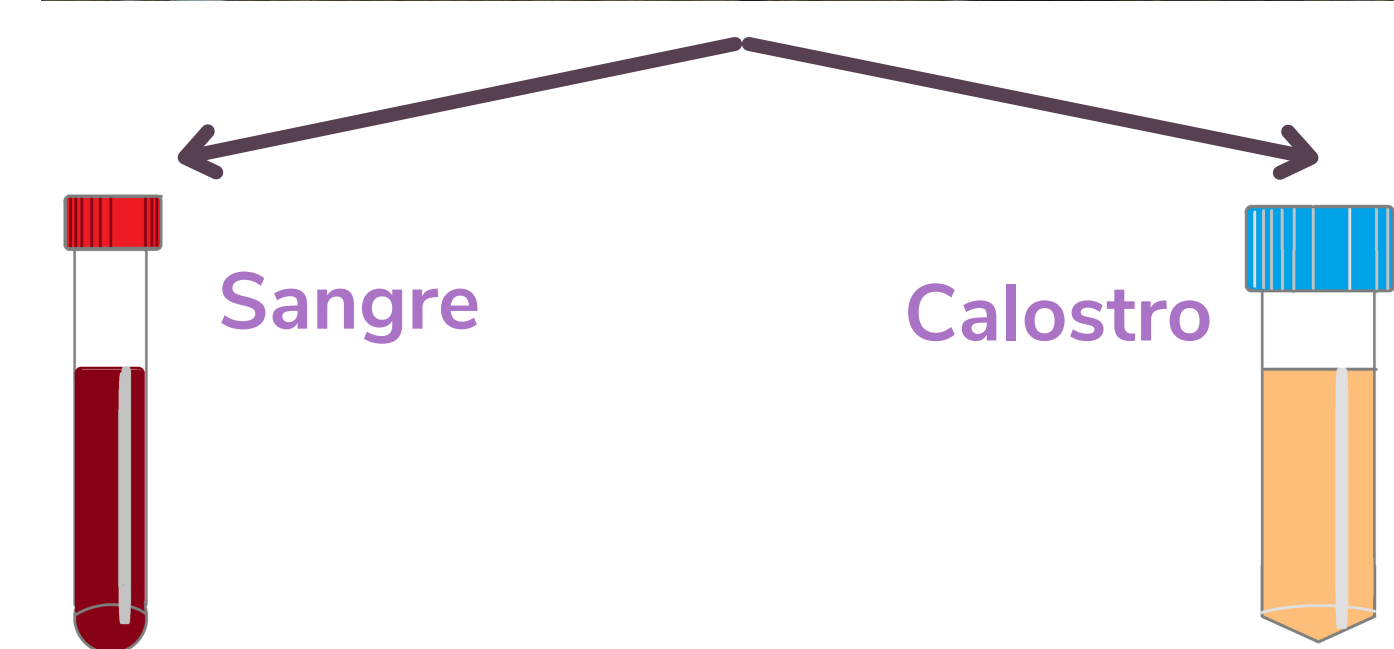
A pesar de la amplia variación de los resultados, la mayor proporción de bovinos positivos detectados a través del análisis del calostro sugiere la necesidad continuar evaluando esta muestra biológica, aumentando la cantidad de animales a analizar, con el fin de esclarecer mejor la potencial utilidad de un test de ELISA realizado a partir de muestras de calostro bovinos IDR negativos.

## Bibliografía

- 1) Ritacco, V., López, B., Barrera, L., Nader, A., Fliess, E., & Kantor, I. N. (1990). Further Evaluation of an Indirect Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the Diagnosis of Bovine Tuberculosis. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*, 37(1-10), 19-27.
- 2) Souza, I. I., Melo, E. S., Ramos, C. A., Farias, T. A., Osório, A. L. A., Jorge, K. S., Vidal, C. E., Silva, A. S., Silva, M. R., Pellegrin, A. O., & Araújo, F. R. (2012). Screening of recombinant proteins as antigens in indirect ELISA for diagnosis of bovine tuberculosis. *SpringerPlus*, 1(1), 77. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-1-77>
- 3) Amadori, M., Lyashchenko, K. P., Gennaro, M. L., Pollock, J. M., & Zerbini, I. (2002). Use of recombinant proteins in antibody tests for bovine tuberculosis. *Veterinary Microbiology*, 85(4), 379-389. [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(02\)00005-6](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(02)00005-6)
- 4) Fife, T., Costopoulos, C., Corner, L., & Wood, P. (1992). Serological reactivity to *Mycobacterium bovis* protein antigens in cattle. *Veterinary Microbiology*, 30(4), 343-354. [https://doi.org/10.1016/0378-1135\(92\)90021-k](https://doi.org/10.1016/0378-1135(92)90021-k)
- 5) Vordermeier, M., Goodchild, A., Clifton-Hadley, R., de la Rua, R. (2004). The interferon-gamma field trial: background, principles and progress. *The Veterinary record*, 155(2), 37-38.
- 6) Plackett, P., Ripper, J., Corner, L., Small, K., Whitte, K. D., Melville, L., Hides, S., & Wood, P. (1989). An ELISA for the detection of anergic tuberculous cattle. *Australian Veterinary Journal*, 66(1), 15-19.
- 7) Waters, W. R., Buddle, B. M., Vordermeier, H. M., Gormley, E., Palmer, M. V., Thacker, T. C., Bannantine, J. P., Stabel, J. R., Linscott, R., Martel, E., Milian, F., Foshaug, W., & Lawrence, J. C. (2011). Development and Evaluation of an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Use in the Detection of Bovine Tuberculosis in Cattle. *Clinical and Vaccine Immunology*, 18(11), 1882-1888. <https://doi.org/10.1128/cvi.05343-11>
- 8) Jenvey, C. J., Reichel, M. P., & Cockcroft, P. D. (2015). Investigation of the comparative sensitivity of serum, colostrum and whey for the detection of specific antibodies in sheep vaccinated against Johne's disease. *Small Ruminant Research*, 123(1), 193-195. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2014.10.006>
- 8) Garbaccio SG, Garro CJ, Delgado F, Tejada GA, Eirin ME, Huertas PS, Leon EA, Zumárraga MJ. Enzyme-linked immunosorbent assay as complement of intradermal skin test for the detection of mycobacterium bovis infection in cattle. *Tuberculosis (Edinb)*. 2019 Jul;117:56-61.

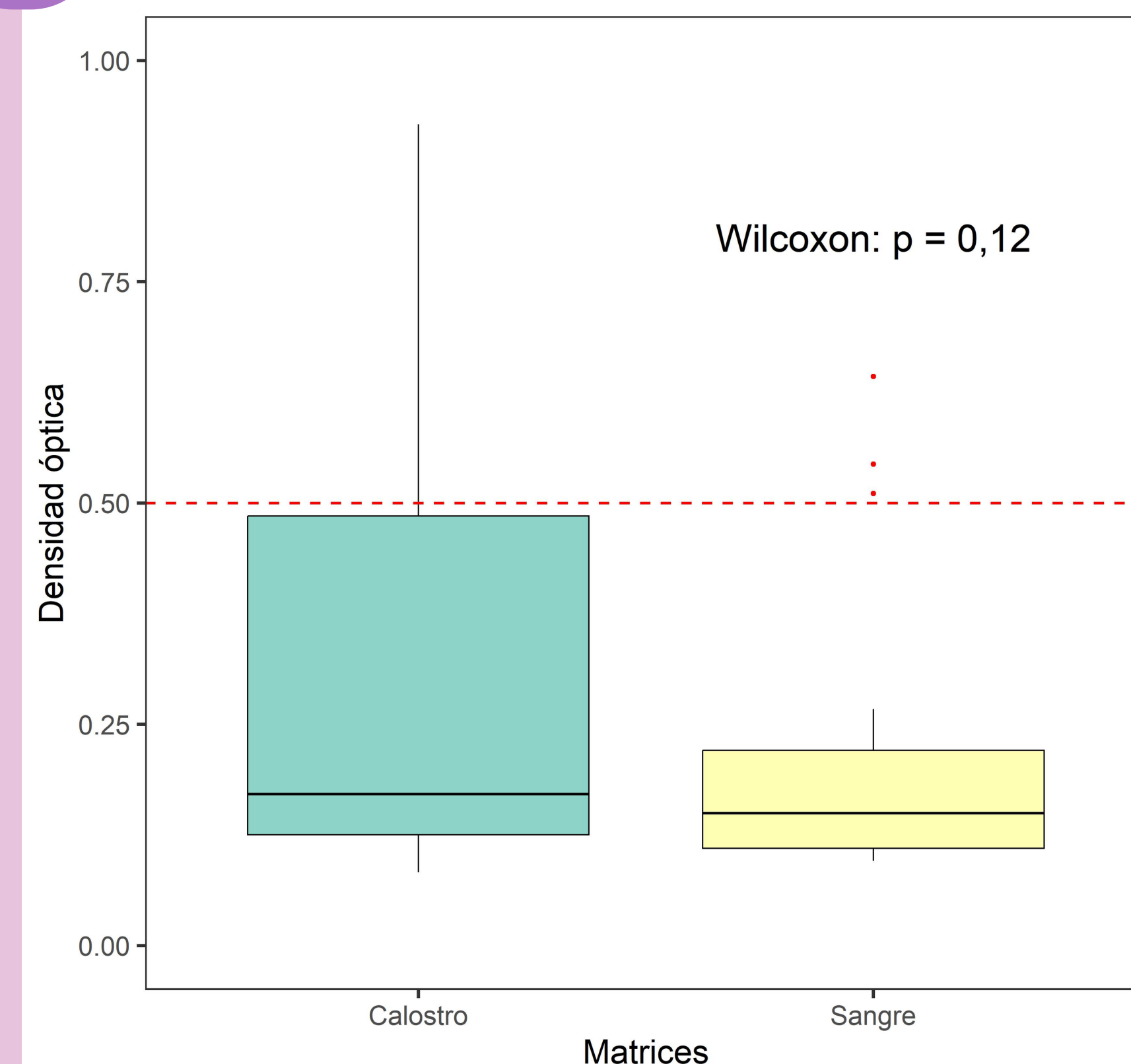
A

### Muestreo de bovino



B

### Boxplot de la DO para Calostro y Suero sanguíneo



C

### Comparación de DO para Suero sanguíneo y calostro entre IDR+ e IDR-

