

VALIDACIÓN DE UN SISTEMA Dot-ELISA PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA TUBERCULOSIS BOVINA

Laura Jaramillo Meza¹, Fernando Díaz Otero¹, Fernando Diosdado Vargas¹

¹Laboratorio de Inmunología del CENID-SAI del INIFAP

Carretera México Toluca Km 15.5, Ciudad de México 05110. jaramillo_meza@yahoo.com.mx.

Palabras clave: Tuberculosis, inmunodiagnóstico, bovinos, Dot-ELISA

Introducción. En nuestro país, la prueba intradérmica de la tuberculina (IDTB) continua siendo la prueba de rutina que se emplea para el diagnóstico de la tuberculosis bovina (TBb); no obstante, existe el inconveniente de que animales con tuberculosis diseminada no reaccionan con frecuencia a la prueba intradérmica, puesto que en estos casos la respuesta inmune se polariza, asociada a un decremento de la inmunidad celular y al desarrollo de una inmunidad humoral específica, por lo que en esta etapa la evaluación de anticuerpos se pondera para fines diagnósticos. Por otro lado, estudios recientes muestran la importancia de los linfocitos B y de los anticuerpos en el desarrollo de una respuesta protectora frente a la tuberculosis. De hecho, los anticuerpos podrían ser un buen indicador de fenómenos de latencia y desempeñar un papel importante evitando la reactivación de la enfermedad. Por lo que el objetivo del estudio fue desarrollar y evaluar un sistema Dot-ELISA para el diagnóstico de la tuberculosis bovina empleando un coctel proteico del extracto proteico del filtrado de cultivo (EPFC) de *Mycobacterium bovis*.

Metodología. El Dot-ELISA se aplicó en combinación con la prueba de tuberculina comparativa (PTC), ensayos de IFN- γ y ELISA en una población de 115 vacas Holstein-Friesian rectoras a la PTC y 55 no rectoras, pertenecientes a un hato de alta prevalencia de tuberculosis. Las diferentes pruebas se aplicaron para determinar el status inmune de los animales hacia la enfermedad y determinar el posible desbalance inmunológico hacia una respuesta preferentemente humoral. Para la evaluación de la significancia entre el Dot-ELISA y el ELISA convencional se utilizó una prueba de Chi cuadrada, y determinó la concordancia con una $P < 0.05$. El ensayo se estableció usando un extracto proteico del filtrado de cultivo (EPFC) de *M. bovis*.

Resultados. En el ensayo de Dot-blot el 98% de las vacas rectoras a la PTC fueron positivas también a las pruebas de IFN- γ empleando como antígeno el PPD bovino, de éstos 85% fueron positivos al ELISA y 80% al Dot-ELISA. En el grupo de vacas no

reactoras, el 95% fueron negativas al IFN- γ , el 97 % al ELISA y el 98% al Dot-ELISA. Existió una alta correlación entre las pruebas empleadas para evaluar la inmunidad celular, al igual que entre las que se usaron para medir anticuerpos, donde se obtuvo un 92.7% de concordancia con un índice de Kappa de 0.850 a un IC95% y $p < 0.001$ para estas últimas.

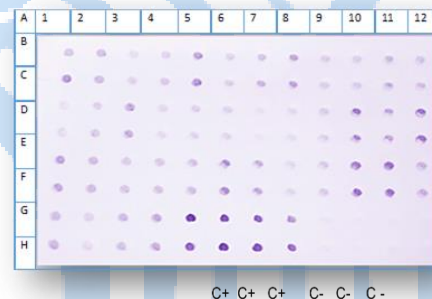


Fig. 1. Resultados obtenidos en el Dot-ELISA empleando un coctel proteico específico del EPFC de *M. bovis* para algunos de los sueros obtenidos de las vacas analizadas.

Conclusiones. Se presume que el empleo del Dot-ELISA conjuntamente con la aplicación de la prueba de tuberculina puede coadyuvar a la identificación de los bovinos tuberculosos en los hatos. Este tipo de ensayos multiantigénicos poseen un alto potencial como herramienta diagnóstica, teniendo en cuenta la evolución de la infección, la variación individual de la respuesta inmune y la historia de tuberculosis en los hatos infectados.

Agradecimiento. Proyecto de Fiscales del INIFAP No. SIGI 13453132021.

Bibliografía.

1. Cho YS, Lee SE, Ko YJ, Cho D, Lee, HS, Hwang I, Nam H, Heo E, Kim JM, Jung S. 2009. Definition of purified enzyme-linked immunosorbent assay antigens from the culture filtrate protein of *Mycobacterium bovis* by proteomic analysis. J Immunoass Immunoch. 30(3)291-304
2. Kumar, G., Dagur, P. K., Singh, P. K., Shankar, H., Yadav, V. S., Katoch, V. M., ... Joshi, B. (2010). Serodiagnostic Efficacy of *Mycobacterium tuberculosis* 30/32-kDa Mycolyl Transferase Complex, ESAT-6, and CFP-10 in Patients with Active Tuberculosis. Arch Immunol Therap Experimental 58(1), 57-65.