

EVALUACIÓN ANTIGÉNICA DE FAGO-PÉPTIDOS HACIA IgG BOVINAS RELACIONADAS CON LA RESPUESTA CONTRA *ANAPLASMA MARGINALE*

Mariana Canuto-Marcial², Itzel Amaro-Estrada*¹, Elizabeth Salinas-Estrella¹, Mayra Cobaxin-Cárdenas¹, Rosa Estela Quiroz-Castañeda¹, Sergio Rodríguez-Camarillo¹.

¹Laboratorio de Anaplasmosis, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, INIFAP, Jiutepec, Morelos, 62574, ²Ingeniería en Biotecnología, Universidad Politécnica del Estado de Morelos, Jiutepec Morelos, 62550.

*amaro.estrada@gmail.com, marianacanutomarcial@gmail.com

Palabras clave: Anaplasmosis bovina, Despliegue en fagos, ELISA.

Introducción. En México la ganadería bovina representa una importante fuente de ingresos económicos y de alimentos para consumo humano. Sin embargo, varios patógenos afectan al ganado, lo que conlleva a la proliferación de enfermedades como lo es la anaplasmosis bovina, una enfermedad infecciosa no contagiosa causada por la bacteria intraeritrocítica *Anaplasma marginale* (1). Una de las vías de transmisión de son las garrapatas, que actúan como un vector biológico para infectar al hospedero, desencadenando anemia, disminución del peso, aborto e incluso la muerte del animal (2). Estudios sobre la respuesta inmune del bovino durante la infección han demostrado que la generación de IgG2 en más alta proporción que IgG1 se traduce en mayor protección y mejor probabilidad de sobrevivencia. Sin embargo, a pesar de los trabajos enfocados a esta enfermedad y su agente causal, sigue vigente la necesidad de estrategias profilácticas y mejores métodos de detección. La técnica de despliegue en fagos ha demostrado ser una herramienta poderosa para la selección de moléculas a través de la interacción con su ligando. Utilizando IgG2 purificadas de bovinos inmunoprottegidos contra *A. marginale*, dos clonas fueron seleccionadas a partir de una librería de péptidos desplegados en fagos filamentosos (3). El presente trabajo tiene como objetivo evaluar el reconocimiento de inmunoglobulinas presentes en sueros de bovinos clasificados como positivos en anticuerpos contra *A. marginale* hacia los fagos-péptidos 18col y PD previamente seleccionados.

Metodología. La amplificación y purificación de los fagos-péptidos se realizó según lo indicado en el manual "Ph.D.TM-12 Phage Display Peptide Library New England Biolabs". Un conjunto de sueros positivos en anticuerpos contra *A. marginale* obtenidos de bovinos infectados experimentalmente, así como de sueros clasificados como positivos y negativos provenientes de bovinos de campo, fue utilizada para la evaluación antigénica de los fago-péptidos. Para determinar los niveles de IgG2 presentes en los sueros, placas de poliestireno de 96 pozos fueron recubiertas

con los sueros a analizar a una dilución 1:10 y 1:100 en solución amortiguadora de carbonatos pH 9.6 y se bloquearon con una solución de leche descremada en solución amortiguadora de fosfatos y 0.05% Tween, se utilizó un anticuerpo anti IgG2 bovino acoplado a fosfatasa alcalina (Bethyl Laboratories), después del tiempo de incubación se agregó el sustrato "SIGMAFASTTM p-Nitrophenyl phosphate Tablets". Se registró la absorbancia a una longitud de onda de 405 nm. Con excepción del proceso de revelado, después de cada paso se realizaron tres lavados con solución amortiguadora de fosfatos y 0.05% Tween. Para la evaluación de antigenicidad de los fago-péptidos, se recubrieron las placas con los fago-péptidos, posteriormente incubando con los sueros y utilizando un anticuerpo secundario, anti-IgG bovino acoplado a fosfatasa alcalina. Todas las muestras fueron evaluadas por triplicado.

Resultados. Se evaluaron cinco sueros obtenidos de bovinos experimentales, así como 9 y 15 sueros de bovinos de campo catalogados como negativos y positivos para anticuerpos contra *A. marginale* respectivamente. El reconocimiento de los sueros para los dos fago-péptidos fueron diferentes, en general se registraron absorbancias más altas con los sueros en los que se detectaron IgG2, en correspondencia a la estrategia de selección.

Conclusiones. Los fago-péptidos seleccionados muestran capacidad antigénica en la presencia de moléculas IgG2.

Agradecimiento. Trabajo derivado de proyectos: INIFAP SIGI 1515235065 y CONACYT CB-252577.

Bibliografía.

1. Kocan, K. M., De La Fuente, J., Blouin, E. F., Garcia-Garcia, J. C. (2004). *Parasitology*, 129(S1), S285-S300.
2. Corona B., Rodríguez M., Martínez S. (2005). Anaplasmosis bovina. *REDVET*. Vol (4):1-27.
3. Vergara RE. (2019). Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Morelos.