



1FD97-1884. La tuberculosis bovina en Asturias. Evaluación de nuevas estrategias para aplicación en la campaña de saneamiento: valoración de un test ELISA

Investigador responsable	Organismo
José Miguel Prieto Martín	SERIDA
Equipo investigador	
Alberto Espí Felgueroso	SERIDA
Victor Álvarez González	C. Medio Rural y Pesca
Francisco García Marín	Univ. de León
Valentín Pérez Pérez	"
M ^a Del Carmen Ferreras	"

Tanto la primera IDTB como la segunda, fue realizada por los equipos de saneamiento.

La infección tuberculosa se confirmó en el 27,65 % de los rebaños. En el 19,14% de los casos el ELISA resultó totalmente negativo y el 53,21 % restante, se corresponde con reacciones cruzadas con micobacterias del complejo *M. avium*, lo que en principio viene a confirmar que cuando la prevalencia de la infección decrece notablemente, como es el caso de Asturias (0,5% de reaccionantes), comenzarían a hacerse más evidentes e importantes proporcionalmente las reacciones cruzadas con otras micobacterias, principalmente del grupo *avium*. Las reacciones cruzadas con *M. avium paratuberculosis* fueron el 11,7 % de los casos, y la infección concomitante de esta micobacteria con la infección tuberculosa fue del 10,63 %, lo que resultó en conjunto una prevalencia de la paratuberculosis para los animales reaccionantes a la IDTB del 22,33%.

Objetivo

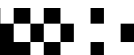
- Valoración de un test ELISA en condiciones de campo y su posible aplicación en las campañas de erradicación de la tuberculosis bovina en Asturias.

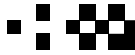
Resultados

Para llevar a cabo este objetivo se seleccionaron 51 rebaños durante el año 2000 y 43 durante el año 2001, que representaron, respectivamente, el 42,3% y el 45,5% de todos los rebaños que durante la campaña de saneamiento tuvieron algún animal reaccionante a la prueba de la tuberculina, lo que supuso la recogida de 2.561 muestras de sangre. Las muestras se tomaron entre los 14 y 18 días posteriores a la intradermo-tuberculinización (IDTB). En el ELISA se emplearon los antígenos PPD (*Purified Protein Derivative*) bovina frente a *M. bovis*, PPD_{aviar} frente a antígenos del complejo *M. avium* y PPD_{aviar}-3 frente a *M. a. paratuberculosis*. Entre dos a tres meses después de haber realizado el ELISA, se realizó una segunda IDTB con PPD bovina en 77 rebaños, de los cuales a 9 se les realizó también la IDTB comparada con PPD_{aviar}.

La segunda IDTB con PPD bovina resultó positiva en 14 rebaños y con la PPD_{aviar} en 2 rebaños. Hay que destacar que la IDTB solamente pudo realizarse en los animales que previamente habían resultado negativos a la IDTB, dado que todos los reaccionantes ya habían sido sacrificados. De los 14 rebaños IDTB positivos, 6 habían resultado al ELISA con reacciones cruzadas con otras micobacterias, de la misma forma que los 2 rebaños reaccionantes a la PPD_{aviar}. Los 8 rebaños restantes fueron interpretados al ELISA como positivos a tuberculosis. De los 61 rebaños IDTB negativos nueve habían resultado positivos a tuberculosis en la prueba ELISA.

En resumen, creemos que el test tiene utilidad práctica como prueba complementaria a la





IDTB, siendo eficaz para detectar las reacciones cruzadas con otras micobacterias del grupo *M. avium*, especialmente *M. a. paratuberculosis*. No obstante, se encontraron algunas contradicciones entre los resultados del test y la IDTB, como es el caso de los nueve rebaños claramente positivos al test y posteriormente negativos a la IDTB. En futuros ensayos sería conveniente hacer un seguimiento de

estos rebaños, repitiendo éstas y otras pruebas complementarias, como la realización de análisis anatómo-patológicos de los animales sacrificados en el matadero, y así valorar con más información los resultados obtenidos. Es de destacar que tanto en la primera como en la segunda IDTB no se utilizó el cutímetro para realizar la lectura, lo que pudo haber influido en una falta de sensibilidad de la IDTB.

1FD97-0770-CO2-02. Identificación y producción de antígenos recombinantes de *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides*, para su uso en el inmunodiagnóstico de la Pleuroneumonía contagiosa bovina (PNCB)

Investigador responsable	Organismo
José Miguel Prieto Martín	SERIDA
Equipo investigador	
Alberto Espí Felgueroso	SERIDA
Victor Alvarez González	C. Medio Rural y Pesca
Francisco Parra Fernández	Univ. de Oviedo
José Manuel Martín Alonso	"
Jorge Cavielles Díaz	C. Medio Rural y Pesca

Resultados

Cultivo y producción de antígenos de *Mycoplasma* spp.

Los antígenos fueron obtenidos a partir de las células lavadas y centrifugadas de *M. mycoides* subespecie *mycoides* (cepas de campo aisladas en Asturias) y de *M. bovis* y *M. capricolum* cedidas por el Laboratorio de Referencia para mycoplasmas de Lisboa. Se obtuvieron cuatro tipos de antígenos: El A-1, realizado mediante cinco periodos de sonicación de un minuto cada uno. El A-2, obtenido mediante tratamiento con calor a 121°C durante 20 minutos. El A-3, obtenido por precipitación en frío con tres volúmenes de etanol durante 24 horas. El A-4, que se trató de un antígeno recombinante obtenido mediante técnicas moleculares (realizado en la Universidad de Oviedo). El A-5, que fue obtenido mediante sonicación de células de *M. capricolum*.

Objetivos

- Puesta a punto de un ensayo ELISA basado en un antígeno recombinante o en su defec-to en otros obtenidos por métodos convencionales, con el fin de sustituir a la técnica de la fijación del complemento (FC).
- Optimización de un western blot (WB) para determinar los polipéptidos más idóneos para diferenciar las reacciones cruzadas con otros mycoplasmas, especialmente *Mycoplasma bovis*.