

EVALUACIÓN POR ELISA EN LECHE PARA LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS FRENTE A *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*

Tieri S¹, Cirone K^{1,2}, Morsella C¹, Méndez L¹, Paolicchi F^{1,2}

- (1) Laboratorio de Bacteriología, Área Producción Animal, EEA INTA, Balcarce, Buenos Aires, Argentina.
 (2) Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata, Balcarce, Buenos Aires, Argentina.

Objetivo

Comparar las características operativas de dos diferentes pruebas de ELISA para leche (ELISA "in house" y kit de ELISA comercial) en rodeos lecheros bovinos con evidencia clínica de paratuberculosis.

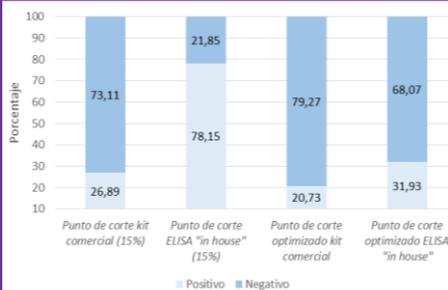


Figura 1. Porcentaje de muestras positivas y negativas de acuerdo al punto de corte de cada técnica.

Materiales y métodos

MUESTRAS

Se obtuvieron 357 muestras de materia fecal y leche de bovinos adultos Holando Argentino pertenecientes a tres establecimientos lecheros ubicados en la provincia de Buenos Aires, Argentina.

PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Las muestras de leche se analizaron mediante dos pruebas de ELISA indirectas:

- 1) ELISA 1, "in house" utilizando el antígeno PPA-3 (Allied Monitor, USA) adaptado por Paolicchi *et al.* (2003).
- 2) ELISA 2, kit comercial (ID Screen® Paratuberculosis Indirect-IDVet, Francia) según indicaciones del fabricante.

Se determinó la densidad óptica (DO) a 405nm para cada muestra de leche y se calculó el porcentaje de positividad (%P) como sigue:

$$\%P = \frac{DO(\text{muestra}) - DO(\text{control negativo})}{DO(\text{control positivo}) - DO(\text{control negativo})} \times 100$$

A partir de los %P se generaron diagramas de dispersión.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La comparación y análisis de la concordancia entre ambas técnicas se realizó mediante el índice Gwet.

Resultados

Utilizando el ELISA 1 se obtuvieron 279 positivos y 78 negativos; con el ELISA 2, 96 positivos y 261 negativos con un punto de corte del 15%P (según recomendaciones del fabricante). Se calcularon nuevos puntos de corte mediante el análisis de curva ROC, utilizando el cultivo fecal como técnica de referencia, siendo 40,5%P para el ELISA 1 y 21,61%P para el ELISA 2. Utilizando estos puntos de corte, la sensibilidad y especificidad para el ELISA 1 fue 64% y 69% respectivamente y para el ELISA 2, 64% y 80%.

Tabla 1. Estudio de concordancia.

Técnicas	N	Punto de corte (%)	Índice Gwet's AC1	Grado de concordancia
ELISA 1 – ELISA 2	357	15	-0,123	Pobre
ELISA 1 – ELISA 2*	357	40,5/21,61	0,54	Moderado

*Técnica de referencia: cultivo fecal.

Con el punto de corte calculado para el ELISA 1, 114 muestras fueron positivas y 243 negativas. Asimismo, con el punto de corte optimizado para el ELISA 2 se obtuvieron 74 positivos y 283 negativos.

Conclusión

Con los puntos de corte optimizados, la concordancia entre las técnicas mejoró. Estos resultados muestran la importancia de optimizar los valores de corte para diferentes regiones dependiendo de la etapa de la infección y el nivel de prevalencia de PTBC de la región.