

---

**ESTANDARIZACION DE UNA TECNICA DE ELISA PARA  
RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA BOVINA (RIB)  
Y ENCUESTA SEROLOGIA DEL HATO BON DE ANTIOQUIA**

**Rodas JD<sup>1</sup> Arboleda JJ<sup>1</sup>, Zuluaga FN<sup>1</sup>, Acebedo LM<sup>1</sup>, Trujillo LE<sup>2</sup>, Ossa JE<sup>1</sup>**

**INTRODUCCION**

La RIB es una enfermedad herpética, con sintomatología muy variada, pero generalmente asociada con rinotraqueitis, vulvovaginitis o balanopostitis y aborto (2).

En Colombia y particularmente en Antioquia se ha informado acerca de la evidencia serológica de la enfermedad (2), pero la importancia clínica es aún motivo de controversia.

De otra parte las razas criollas colombianas, la Bon entre ellas, constituyen una posible alternativa para mejorar la rusticidad y la adaptabilidad de las razas foráneas y para lograr una mayor producción de carne y leche.

El presente proyecto se enfoca hacia dos problemas complementarios: el primero, estandarizar una prueba específica, sensible y económica para el diagnóstico serológico de la RIB y, el segundo, el uso de dicha técnica para hacer una aproximación epidemiológica a la infección en el hato Bon de Antioquia.

**MATERIALES Y METODOS**

**POBLACION ESTUDIADA**

Se estudiaron 694 sueros bovinos entre los cuales 519 BON corresponden a los hatos más grandes del departamento de Antioquia: ICA (San José del Nus), Universidad Nacional (Santa Elena), y la Universidad de Antioquia (Hatillo); adicionalmente fue muestreado un hato particular en el municipio de Uramita.

---

*1 Laboratorio de Virología, Facultad de Medicina, U. de A,  
2 Universidad Nacional, Medellín.*

### **Neutralización Viral:**

Los sueros de prueba fueron inactivados a 56° C por 1/2 h. y luego se probaron en una dilución 1:8 frente a 100 dosis infecciosas, en células MDBK. Los platos se incubaron durante 72 h. y luego se tiñeron con cristal violeta. Se determinó como positivo aquel suero en el cual los anticuerpos neutralizantes protegen al menos el 50% de la monocapa celular con respecto al control de células (2).

**ELISA:** Se siguió el procedimiento de ELISA para Citomegalovirus estandarizado por correa y cols (3). Brevemente, se prepara antígeno mediante extracción con tampón de glicina y sonicación a partir de células MDBK infectadas con el virus de la IBR y células no infectadas como antígeno control. Estas preparaciones se titularon a las diluciones 1:50, 1:100, 1:200 y 1:400. Los platos de ELISA se sensibilizaron con la dilución de antígeno o con la misma dilución de control de antígeno y se conservaron a 70° C hasta su uso.

Al momento de la prueba los platos fueron tratados con leche en polvo descremada al 2% en PBS; luego se diluyeron los sueros a probar 1:80 en tampón de dilución, dos en pozos con antígeno y dos pozos como control y se incubó 1h/37° C. Posteriormente se lavó con PBS Tween, se agregó la anti-inmunoglobulina conjugada con fosfatasa alcalina y se incubó de nuevo 1h/37°C. Se lavó nuevamente PBS-Tween y se adicionó el sustrato; se incubó por 45 min. en la oscuridad y finalmente se agregó solución de parada y se leyó en el espectrofotómetro a 405 nm.

Para la estandarización de la prueba se utilizaron sueros cuya reactividad por neutralización era conocida y para cada suero se determinó la diferencia de los promedios de absorbancia entre los pozos con y sin antígeno (delta de absorbancia).

## **RESULTADOS**

Para la estandarización del ELISA se utilizaron 694 sueros, previamente probados por Neutralización (Nt). El promedio del delta de absorbancia de los sueros negativos por neutralización fue de 0.09 y la desviación estándar 0.09. Se determinó un punto de corte de 0.27, correspondiente al promedio más dos desviaciones estándar, con lo cual se obtiene una especificidad del 96% y una sensibilidad del 95%. Para el estudio de prevalencia en el hato BON se probaron 519 sueros, de los cuales 62(11.95%) resultaron positivos y 457 (88.05%) fueron negativos por neutralización. La prueba de ELISA se practicó para 433 de estos mismos sueros y con una concordancia del 95.8%. Los sueros discordantes se distribuyen de la siguiente forma: 3.2% fueron negativos por Nt y positivos por ELISA y 1% fueron positivos por Nt y negativos por ELISA.

## DISCUSION

Los resultados indican que esta prueba de ELISA, representa una alternativa diagnóstica altamente específica. La sensibilidad es todavía susceptible de mejorar cuando se haya determinado la causa de la incongruencia, la cual podría radicar en una de las siguientes posibilidades:

- Los sueros negativos por Nt y positivos por ELISA, podrían deberse a una mayor sensibilidad del ELISA o a la posible existencia de anticuerpos potenciadores de la infección (4).

- Los sueros positivos por Nt y negativos por ELISA podrían tener explicación en infecciones tempranas dominadas por IgM no detectadas por el ELISA. Estas posibilidades están siendo evaluadas en la actualidad.

La prevalencia de la RIB observada en el hato BON de Antioquia, es baja comparada con trabajos previos en el departamento y otras regiones (2), por lo cual se plantea la posibilidad de erradicación basados en las normas utilizadas en experiencias anteriores en otros países (1).

## BIBLIOGRAFIA

ACKERMAN M, MULLER H, BRUCKNER L, et. al. (1990). Erradication of infectious bovine rhinotracheitis in Suizerland: review and prospects. Vet. Microb. 23 p. 365-370.

ARBOLEDA J. J., BEDOYA D.A. y J.D. RODAS. (1991). Estudio sobre la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en un hato lechero del Valle del Aburrá. Trabajo de Grado. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia Universidad de Antioquia, 1991.

CORREA M, ARANGO A.E. y J OSSA. (1990) Estandarización de un método de ELISA para Citomegalovirus humano. Acta Médica Colombiana. Vol. 15, No. 4 p. 180-186.