

Ensayo preliminar para un diagnóstico alternativo del virus de Lengua Azul en Argentina

Manfredi, MJ(1,2); Larsen, AE(2); Salina, MD(2,3); Herrera Sampons, SR(2); Iza, RE(2); Mortola, EC(2).

(1) Comisión de Investigaciones Científicas (CIC); (2) Centro de Microbiología Básica y Aplicada (CEMIBA), Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata (UNLP). La Plata, Prov. Buenos Aires, Argentina; (3) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).
Contacto: maurojmanfredi@gmail.com

El virus de la lengua azul (VLA, en inglés *bluetongue virus* o BTV) pertenece al género *Orbivirus* ampliamente distribuido a nivel mundial. Es una enfermedad transmitida principalmente por artrópodos hematofagos (género *Culicoides*) y afecta a rumiantes domésticos y silvestres. Hasta la fecha se han reportado más de 27 serotipos grupo específicos y en Argentina solo se aisló el serotipo 4 en las provincias de Corrientes y Entre Ríos. La prevalencia real de esta enfermedad es desconocida. Las pruebas diagnósticas recomendadas por la Organización Mundial de la Salud Animal (OIE) son inmunodifusión en gel de agar (IDGA), ELISA y técnicas moleculares (RT-PCR) y como prueba alternativa sugiere seroneutralización. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la técnica de Dot-Blot como alternativa a la prueba de IDGA. La prueba de IDGA comercial se realizó según indicaciones del laboratorio productor (Bluetongue Virus Antibody Test Kit AGID-VMRD), cuyo antígeno diagnóstico se utilizó para la prueba de Dot-Blot. Se procesaron 10 sueros bovinos control y 14 sueros ovinos procedentes de la provincia de Corrientes. Teniendo en cuenta la baja prevalencia de esta enfermedad en nuestro país, se analizó la sensibilidad analítica de estas pruebas frente a sueros puros y a pools de sueros control positivos diluidos 1/4 y 1/8 con sueros negativos como diluyente. El dot-Blot se realizó en membrana de nitrocelulosa donde se adsorbieron 2 μ l de antígeno de IDGA. La membrana se bloqueó por 30 minutos a 37 °C con una solución de PBS, leche 5% y Tween 20 0,1%, también utilizada como solución diluyente. Los sueros fueron diluidos 1/50 y el conjugado anti especie (Protein G conjugate - P21041 - Thermo Fisher Scientific) 1/1000. Los periodos de incubación fueron de 45 minutos a 37°C y los ciclos de lavado comprendieron 3 lavados de 3 minutos cada uno. Los resultados de este estudio han demostrado una concordancia total de todos los sueros analizados por las técnicas de IDGA y Dot-Blot. Sin embargo, dado el número de muestras analizadas no se pudo realizar, en esta primera etapa de la investigación, el estudio estadístico correspondiente. En el análisis de los pools, las diluciones de sueros de 1/4 resultaron ser capaces de arrojar resultados positivos. Si bien se deben realizar estudios adicionales que permitan la estandarización del Dot-Blot para el diagnóstico de la infección por el VLA; la prueba evaluada demostró ser efectiva y confiable, además de ser fácil de manejar e interpretar los resultados. Consigue una distinción precisa entre resultado positivo y negativo, generando

una seguridad en la ejecución e interpretación de los resultados. Dot-blot puede considerarse como un método alternativo, simple, preciso y rápido que permita evaluar un gran número de muestras para facilitar el diagnóstico de la infección por el VLA