

**XU** Congresso  
Fluminense  
de Iniciação  
Científica e Tecnológica

**28<sup>o</sup>**  
Encontro de  
Iniciação  
Científica  
da UENF

**20<sup>o</sup>**  
Circuito de  
Iniciação  
Científica do  
IFFluminense

**16<sup>a</sup>**  
Jornada de  
Iniciação  
Científica  
da UFF



**U III** Congresso  
Fluminense de  
Pós-Graduação

**23<sup>a</sup>**  
Mostra de  
Pós-Graduação  
da UENF

**8<sup>a</sup>**  
Mostra de  
Pós-Graduação  
do IFFluminense

**8<sup>a</sup>**  
Mostra de  
Pós-Graduação  
da UFF

## Validação de um novo kit ELISA sanduíche para diagnóstico da Paratuberculose bovina em fezes de bovinos

*Lanna de Oliveira Corredouro Pereira, Ítalo Coutinho, Paula Magnelli Mangiavacchi, Elena Lassounskaia, Giliane da Silva de Souza*

A Paratuberculose bovina (PTB) ou doença de Johne, causada pelo *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis* (MAP), representa um dos maiores problemas veterinários nos países com agricultura industrial, como o Brasil. A PTB afeta a produtividade de vacas leiteiras infectadas, causando redução na produção diária de leite. A infecção por MAP é crônica, caracterizada por uma evolução lenta para a doença, dificultando a identificação dos animais infectados por meio de testes laboratoriais atualmente desenvolvidos, incluindo testes moleculares de alto custo para diagnóstico fecal. Recentemente, desenvolvemos um novo teste imunológico para detecção rápida de antígeno micobacteriano nas fezes de bovinos com PTB por ensaio ELISA sanduíche. O teste é baseado na detecção do antígeno APA-MAP por anticorpos monoclonais específicos (kit ELISA PTB-detect). No presente estudo, objetivamos validar o kit ELISA PTB-detect, comparando sua sensibilidade e especificidade com outros kits disponíveis comercialmente para diagnóstico molecular ou sorodiagnóstico de PTB. Amostras de soro e fezes foram coletadas de bovinos em diferentes rebanhos leiteiros com histórico de PTB na região Norte e Noroeste Fluminense. Todas as amostras de soro foram testadas para detecção de anticorpos anti-MAP usando o kit comercial PARAS-4P ID-Vet Screen® Paratuberculosis Indirect Screening test (França) e as amostras fecais foram processadas submetidas ao teste VetMAX™ MAP Real-Time PCR (EUA), e ao kit PTB-detect. Nossos resultados demonstram que o kit PTB-detect alcançou uma alta taxa de precisão na detecção de PTB nas fezes em comparação com a taxa de detecção obtida pelo kit VetMAX™ MAP Real-Time PCR. Nem todos os animais soropositivos, detectados para a presença de anticorpos antimicobacterianos no soro por ELISA indireto comercial, exibiram a presença do antígeno APA-MAP ou DNA micobacteriano nas fezes. Esses resultados demonstram que o kit PTB Detect ELISA e o kit VetMAX baseado em PCR, indicados para diagnóstico fecal, são ferramentas úteis para a detecção de animais com doença PTB ativa, caracterizada por eliminação de micobactérias ou produtos micobacterianos nas fezes. A utilização do novo kit PTB-Detect pode reduzir o custo do diagnóstico laboratorial da PTB no Brasil, que atualmente depende de kits e reagentes importado.

*Instituição do Programa de IC, IT ou PG: UENF  
Eixo temático: Biociências  
Fomento da bolsa (quando aplicável): FAPERJ*

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:



APOIO:



**XU** Congresso  
Fluminense  
de Iniciação  
Científica e Tecnológica

**28<sup>o</sup>**

Encontro de  
Iniciação  
Científica  
da UENF

**20<sup>o</sup>**

Circuito de  
Iniciação  
Científica do  
IFFluminense

**16<sup>a</sup>**

Jornada de  
Iniciação  
Científica  
da UFF



**UIII** Congresso  
Fluminense de  
Pós-Graduação

**23<sup>a</sup>**

Mostra de  
Pós-Graduação  
da UENF

**8<sup>a</sup>**

Mostra de  
Pós-Graduação  
do IFFluminense

**8<sup>a</sup>**

Mostra de  
Pós-Graduação  
da UFF

## Validation of a new sandwich ELISA kit for diagnosis of bovine Paratuberculosis in feces of cattle

*Lanna de Oliveira Corredouro Pereira, Ítalo Coutinho, Paula Magnelli Mangiavacchi, Elena Lassounskaia, Giliane da Silva de Souza*

Bovine Paratuberculosis (PTB) or Johne's disease, caused by *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP), represents one of the biggest veterinary problems in the countries with industrial agriculture, such as Brazil. PTB affects the productivity of infected dairy cows, causing a reduction in the daily milk yield. MAP infection is chronic, characterized by a slow progression to the disease, making it difficult to identify infected animals through currently developed laboratory tests, including high-cost molecular tests for fecal diagnosis. Recently, we developed a novel immunologic test for rapid detection of mycobacterial antigen in the feces of cattle with PTB by sandwich ELISA assay. The test is based on detection of the APA-MAP antigen by specific monoclonal antibodies (PTB-detect ELISA kit). In the present study, we aimed to validate the PTB-detect ELISA kit, comparing its sensitivity and specificity with other commercially available kits for molecular or serodiagnosis of PTB. Samples of serum and feces were collected from cattle in different dairy herds with a history of PTB in the region of North Fluminense (Brazil). All serum samples were tested for anti-MAP antibodies using the commercial kit PARAS-4P ID-Vet Screen® Paratuberculosis Indirect Screening test (France) and fecal samples were processed and submitted to the VetMAX™ MAP Real-Time PCR test (USA) and PTB-detect ELISA kit. Our results demonstrate that the PTB-detect kit achieved a high accuracy rate of PTB detection in feces compared with the detection rate obtained by VetMAX™ MAP Real-Time PCR kit. Not all seropositive animals, detected for the presence of anti-mycobacterial antibodies in serum by commercial indirect ELISA, exhibited the presence of mycobacterial antigen or mycobacterial DNA in feces. These results demonstrate that the PTB Detect ELISA kit and the PCR-based VetMAX kit, indicated for fecal diagnosis, are useful tools for detection of animals with active PTB disease, characterized by shedding of mycobacteria or mycobacterial products in feces. Employment of the novel PTB-Detect kit may reduce the cost of laboratory diagnosis of PTB in Brazil, which currently depends on imported kits and reagents.

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:



APOIO:

