

TITULO: PRODUCCION DE ANTIGENOS DE HAEMOPHILUS pleuropneumoniae PARA LAS PRUEBAS DE FIJACION DE COMPLEMENTO Y AGLUTINACION EN TUBO CON 2-MERCAPTOETHANOL.

AUTORES: ONTIVEROS C. L., ROJAS R. A., CAMACHO J.
INSTITUCION(ES): CENID-MICROBIOLOGIA, INIFAP, FES-CUAUTITLAN, UNAM.

INTRODUCCION: Comunmente un desarrollo puro de H. pleuropneumoniae es facilmente obtenido de los pulmones de animales con infecciones de tipo agudo de pleuropneumonia, mientras que el aislamiento de tejidos y organos como los pulmones y la pleura es dificil en casos cronicos (2,6,8). En lesiones muy viejas es sumamente dificil el aislamiento, y las pruebas serológicas son el método adecuado para obtener el diagnóstico.

Esto es posible con el uso de pruebas tales como fijación de complemento y aglutinación en tubo con 2-mercaptoethanol (3,8). Es necesario llevar a cabo estas pruebas para cada animal, y los resultados podrian ser interpretados en base al hato. La razón de esto es que en hatos infectados recientemente, tienen titulos positivos unos cuantos animales, y en el hato infectado crónicamente el porcentaje de animales seropositivos pueden variar considerablemente (1,3,4,8).

OBJETIVO: El presente estudio fue el de producir los antígenos de H. pleuropneumoniae serotipo 1,2,3,4,5,6,7,8., para ser utilizados en las pruebas de fijación de complemento y aglutinación en tubo con 2-mercaptoethanol.

MATERIAL Y METODOS: Para la extracción de los antígenos se utilizaron las cepas de H. pleuropneumoniae serotipo 1,2,3,4,5,6,7,8, estos fueron cultivados por 18 horas en agar chocolate enriquecido con 0.1% de NAD, después se cosecharon con solución salina fisiológica conteniendo 0.3% de formalina, manteniendose a temperatura ambiente durante 48 horas, posteriormente cada cosecha fue purificada por medio de lavados con solución salina fisiológica.

La determinación de los antígenos se lleva a cabo por absorbancia a 550 nm.

La preparación de antisueros se llevó a cabo de la siguiente forma: Se utilizaron 3 conejos adultos Nueva Zelanda para cada serotipo, la inoculación fue por vía intravenosa 2 veces por semana incrementado la dosis de la suspensión de células formalinizadas. Las dosis fueron 0.5, 1, 2, 3 ml seguidas de dos inoculaciones de 3 ml cada una de un cultivo vivo de 6 horas con un intervalo de una semana. Al término de la inoculación los conejos fueron sangrados y se separó el suero y este fue almacenado a -20 C hasta el momento de ser utilizados.

RESULTADOS: La concentración de los antígenos para la producción de antisueros fue de una D.O. a 550 nm. Para las pruebas serológicas la concentración fue de 0.4 D.O. a la misma longitud de onda.

Las pruebas de fijación de complemento y aglutinación en tubo con 2-mercaptoethanol se comportaron mejor cuando el antígeno se calentó previamente a la prueba a 56°C por 10 minutos, elevándose con esto el título de anticuerpos por dos diluciones.

A los sueros se les hicieron diluciones dobles para realizar las pruebas antes mencionadas. De los 68 sueros de cerdo con antecedentes pneumónicos se encontraron 11 positivos a ambas pruebas, que representa el 16% de los cuales, el 45.5% (5) - tuvieron reacción específica con el antígeno del serotipo 1, 9% (1) con el serotipo 5, 18% (2) con el serotipo 6, 9% (1) - con el serotipo 7, 18% (2) con el serotipo 8.

DISCUSION: Ambas pruebas se comportaron de igual manera en la detección de anticuerpos ya que los sueros positivos se presentaban en ambas pruebas.

Los antígenos tratados con calor dieron más sencibilidad a las pruebas, ya que se exponían determinantes antigénicos que se encontraban ocultos (4).

Tanto en la prueba de 2-mercaptoethanol y fijación de complemento se encontró reacción cruzada con los serotipos 3, 5, 8, siendo semejantes esto con los resultados reportados por Mittal et al (4) en la prueba de 2-mercaptoethanol y Rapp et al (9) en la prueba de fijación de complemento.

BIBLIOGRAFIA:

1. Brad W. Fenwick and Bennie L. Osbrum: Immune Responses to the Lipopolysaccharides and Capsular Polysaccharides of Haemophilus pleuropneumoniae in Convalescent and Immunized pigs. Infection and Immunity, 1986.
2. Mittal K.R. Higgins R. Loriviere: Detection of type specific antigens in the lungs of Haemophilus pleuropneumoniae infected pigs by coagulation test. J. clin. Microbiol., 1983.
3. Mittal K.R., Higgins, R. Loriviere S. et al. A 2-mercaptoethanol tube agglutination test for diagnosis of Haemophilus pleuropneumoniae infection in pigs. Am. J. Vet. Res., 1984.
4. Mittal K.R., Higgins R. and Loriviere S.: Studies an Cross - Reactious among Haemophilus pleuropneumoniae strain - Belongin to serotypes 3,5,6 and 8 I.P.V.S. Barcelona España, 1986.

5. K.R. Mittal, R. Higgins, S. Loriviere: An evaluation of agglutination and coagglutination Techniques for serotyping of Haemophilus pleuropneumoniae isolates. Am. J. Vet. Res. Vol. 48. No.2, 1987.
6. Nicolet, J. de Meuron, P. Acand Vachmann, P.H.: Sur l'hemophilose du porc. IV. L'epreuve de deviation du complement, un test de depistage des infection Haemophilus parahaemolyticus. Schweiz Arch. Tierheilk. Vol. 113, 1971.
7. Pijoan C.: Serology and Immunology of Haemophilus pleuropneumoniae. Anual Meeting of the American Association of Swine Practitioners. March 24-26. 1985 Desmoines Iowa.
8. Schultz, R.A., T.F. Young, R.F., Ross, and D.R. Jeske: Prevalence of antibodies to Haemophilus pleuropneumoniae in Iowa Swine. Am. J. Vet. Res. Vol. 43, 1982.
9. Rapp, V.J., Ross R.F. and Young T.F.: Characterization of Haemophilus ssp Isolated from Healthy Swine and Evaluation of Cross-Reactivity of Complemento fixing antibodies to Haemophilus pleuropneumoniae and Haemophilus Taxon "Minor Group" Journal of Clinical Microbiology, 1985.