

TITULO: UNA PRUEBA DE ROSA DE BENGALA PARA EL DIAGNOSTICO SEROLOGICO DE Haemophilus pleuropneumoniae EN CERDOS.

AUTOR (S): AGUILERA, C.E., COLMENARES, G., LARA, S.V., TORRES, O., CERVANTES, O.R., CAMACHO, J. Y CIPRIAN, A.

INSTITUCION (ES): COORDINACION GENERAL DE INVESTIGACION Y ESTUDIOS DE POSGRADO, FES-CUAUTITLAN, UNAM., DEPTO. EPIZOOTIOLOGIA, CENID-MICROBIOLOGIA, INIFAP.

AREA: SANIDAD ANIMAL.

INTRODUCCION.

Para el diagnóstico de la "Pleuroneumonía Contagiosa Porcina" (PCP) se emplean cuatro métodos: a) observación de los signos clínicos en el cerdo y en los de la zahurda; b) observación de las lesiones a la necropsia; c) aislamiento y tipificación del Haemophilus pleuropneumoniae y diagnóstico serológico (Nielsen, 1985). En otros países, el diagnóstico serológico se basa en la detección de anticuerpos en los cerdos para determinar el status inmune de la granja y establecer las medidas de control de la PCP. En México, en el mejor de los casos, solo se limita al diagnóstico, debido principalmente a la falta de infraestructura y de recursos humanos capacitados.

En el diagnóstico serológico de la PCP se han ideado algunas pruebas: aglutinación (Yamamoto y Ogata, 1980); aglutinación con partículas de latex (Mitui et al., 1981); aglutinación en tubo con 2-mercaptoetanol (2-ME) (Mittal et al., 1984); hemoaglutinación indirecta (Nielsen, 1974); fijación de complemento (F. de C) (Lombin et al., 1982; Gunnarson, 1979) y prueba de ELISA (Nicolet et al., 1981). La prueba de F. de C. se utiliza en muchos países en forma rutinaria para el diagnóstico y control de la PCP y determina que granjas están libres de la enfermedad, sin embargo, el suero del cerdo interfiere en la interpretación de la prueba por la actividad precomplementaria y anticomplementaria, además de que los sueros de animales inmunizados con vacuna oleosa tienen actividad anticomplementaria (Nicolet et al., 1971; Pijoan, 1985). Se ha empleado una prueba que detecta la misma inmunoglobulina que detecta la prueba de F. de C. esta prueba se denomina prueba de rosa de bengala o prueba de tarjeta y se ha empleado en forma eficiente para el diagnóstico de brucelosis porcina.

OBJETIVO.

Evaluar una prueba de tarjeta modificada, para el diagnóstico serológico de la PCP.

MATERIALES Y METODOS.

Preparación del Reactivo: Un cultivo de 18 a 20 h de Haemophilus pleuropneumoniae serotipo 1 en BHI caldo con extracto fresco de levadura al 10% (v/v) se lavó tres veces con PBS pH 7.4 y el paquete celular se suspendió al 2% en PBS y se mezcló volumen a volumen con PBS formalinizado al 1.5%,

se incubó a temperatura ambiente durante 30 min.; se lavo nuevamente tres veces con PBS y se resuspendió al 10% con PBS-VAT (EDTA/tritón X-100 al 0.5%) y se incubó a temperatura ambiente durante 15 min., el paquete se pesó y se resuspendió en 22.5 ml/g con SSF y se le agregó 1 ml de rosa de bengala por cada 35 ml, se agitó y se filtró por algodón absorbente estéril; se lavo con PBS y el paquete se pesó y se resuspendió con 14 ml/g en un buffer de lactatos pH 3.6; se agitó y se filtró por algodón estéril y por medio de hematocrito se ajustó la concentración del 8%.

Procedencia de los sueros: Se colectaron 80 sueros de origen desconocido del rastro de Cuautitlán Izcalli y 48 sueros de cerdos que fueron vacunados contra *H. pleuropneumoniae*.

Pruebas serológicas: Se realizaron las pruebas de aglutinación en tubo y se consideraron como positivos aquellos sueros que presentaron títulos superiores 1:50 (Yamamoto y Ogata, 1980), 2-ME, se consideraron positivos cualquier título (Mittal *et al.*, 1984) de tarjeta con antígeno modificado, se consideró cualquier grado de aglutinación (Alton *et al.*, 1975).

RESULTADOS.

A los sueros provenientes del rastro solo se les practicó las pruebas de aglutinación lenta en tubo y tarjeta: 39 de los sueros trabajados fueron negativos a la prueba en tubo mientras que de esos 39, solo 36 resultaron negativos a la prueba de tarjeta; mientras que 44 sueros que resultaron positivos a la prueba de tarjeta solo 41 fueron positivos a la prueba en tubo. Los sueros de los animales vacunados variaron en títulos y los anticuerpos que se detectaron fueron de la clase IgM ya resultaron negativos a la prueba de 2-ME y a la prueba de tarjeta, los sueros que resultaron positivos a la prueba de 2-ME fueron positivos a la prueba de tarjeta.

DISCUSION.

La prueba de rosa de bengala o prueba de tarjeta para el diagnóstico de brucelosis es una prueba tamiz que tiene la ventaja de no presentar falsos negativos, con la ventaja que los falsos positivos se pueden confirmar con otras pruebas, en este estudio, la prueba de tarjeta no detectó a la IgM presente en los sueros de los animales vacunados, sin embargo es necesario realizar estudios a nivel de granjas con y sin el problema de la PCP.

LITERATURA CITADA.

Alton G.G., Jones L.M., Pietz, D.E. (1975) Laboratory techniques in brucellosis, ed2. Geneva, World Health Organization.

- Gunnarsson A. (1979). Evaluation of different antigens in the complement fixation test for diagnosis of Haemophilus pleuroneumoniae (parahaemolyticus) infections in swine. Am. J. Vet. Res. 42, 2139-2142.
- Lombin L.H., Rosendal S., Mitchell W.R. (1982). Evaluation of the complement fixation test for the diagnosis of pleuroneumoniae of swine caused by Haemophilus pleuroneumoniae. Can J. Comp. Med. 46, 109-114.
- Mittal K.R., Higgins R., Larriviere S., Leblanc, D. (1984). A 2-mercaptoethanol tube agglutination test for diagnosis of Haemophilus pleuroneumoniae infection in pigs. Am. J. Vet. Res. 45(4), 715-718.
- Mitui T., Onaga H. Nagasawa Y. (1981). Studies on Haemophilus infection in swine. I. Application of the latex agglutination test to the diagnosis of Haemophilus pleuroneumoniae (H. parahaemolyticus) infection. Vet. Microbiol 6, 339-349.
- Nielsen R. (1974). Serological and immunological studies of pleuroneumonia of swine caused by Haemophilus parahaemolyticus. Acta Vet. Scand. 15, 80-89.
- Nielsen, R. (1985). Haemophilus pleuroneumoniae diagnosis, immunity and control. In Haemophilus pleuroneumoniae compendium. Annual Meeting of the American Association of Swine Practitioners. USA.
- Nicolet J., de Meuron P.A., Bachmann P. (1971). Sur l'hémophilose du porc. IV. L'épreuve de déviation du complément, un test de dépistage des infections à Haemophilus parahaemolyticus. Schweiz Arch. Tierheilkd 113, 191-200.
- Nicolet J., Paroz P. Krawinkler M. (1981). An enzyme-linked immunosorbent assay using an EDTA-extracted antigen for the serology of Haemophilus pleuroneumoniae. Am J. Vet. Res. 42, 2139-2142.
- Pijoan C. (1985). Serology and immunology of Haemophilus pleuroneumoniae. In Haemophilus pleuroneumoniae compendium. Annual Meeting of the American Association of Swine Practitioners. USA.
- Yamamoto K., Ogata M. (1980). The use of agglutination test in the serological diagnosis of Haemophilus pleuroneumoniae infection in pigs, in Proceedings Int. Pig Vet. Soc. Cong. Copenhagen, Denmark, 218.