

IMPLEMENTACION DE LA TECNICA DE MICROSUERONEUTRALIZACION PARA EL DIAGNOSTICO DE LA ENFERMEDAD DE OJO AZUL.

RAMIREZ, M. H.*, CARREON, N. R., RODRIGUEZ, T. J., MARTINEZ, R. O. Y MERCADO, G. C.

DEPARTAMENTO DE PRODUCCION ANIMAL: CERDOS. FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA. UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO, MEXICO, D. F. 04500.

INTRODUCCION

El uso de la microsueroneutralización como prueba estándar para la detección de anticuerpos es muy amplio, convirtiéndose en la prueba estándar por su alta sensibilidad y especificidad inmunológica, aunque su uso se limita a virus que producen efecto citopático aparente (3,4).

El efecto citopático que produce el Rubulavirus de Ojo Azul es poco visible y muy retardado, por lo cual es recomendable el uso de pruebas alternativas para determinar la presencia de anticuerpos que posee un animal, sin embargo, cuando se intenta la detección de anticuerpos a nivel de campo se desconoce el momento en el que los animales fueron infectados, siendo factible obtener resultados inespecíficos sobre todo en aquellos animales que no han estado en contacto con el virus.

Por lo que con base a un grupo de 8 sementales infectados experimentalmente con ojo azul se decidió implementar la técnica de microsueroneutralización para el diagnóstico de anticuerpos contra la enfermedad de Ojo Azul y determinar el punto de corte.

MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron 8 cerdos adultos convencionales, serológicamente negativos a la enfermedad de Aujeszky y Ojo Azul. Se sangraron via yugular 10 días antes de ser inoculados via oronasal con 2 ml de Rubulavirus de ojo azul con un título de $10^{6.3}$ DICC. Posteriormente se realizaron tomas sanguíneas a los -10, 0, 3, 5, 12, 15, 19, 27, 33, 40 y 47 días postinoculación para obtener el suero. Las muestras fueron inicialmente analizadas por la técnica de inhibición de la Hemoaglutinación (IHA) con las modificaciones realizadas por Ramirez y cols., para obtener datos de referencia sobre la curva serológica de los animales. Para la microsueroneutralización, se realizaron diluciones seriadas dobles del suero desde 1:2 hasta 1:4096 en placas en fondo plano con medio de cultivo sin suero, posteriormente se adicionó 50 microlitros de antígeno de Ojo Azul con 300 DICC, para incubarse 1 hora a 37°C y finalmente se adicionó 100 microlitros de una concentración de 500,000 células de riñón de cerdo (PK 15). Las placas fueron incubadas a 37°C por 96 horas.

Posteriormente se transfirieron 50 microlitros del sobrenadante de cada suero a un placa en fondo en U y se les adicionó 50 microlitros de una suspensión de glóbulos rojos de bovino al .5%. La lectura se realizó a los 30 minutos y los monoestratos se fijaron con cristal violeta.

Para el análisis de los resultados, las diluciones se transformaron en logaritmo base 2 y se utilizó la prueba de regresión lineal simple.

RESULTADOS

De las muestras analizadas, se detectó la presencia de anticuerpos hasta el día 13 postinoculación, con títulos bajos a través de la IHA y MSN, manteniéndose altos después del día 19. El coeficiente de regresión (r) fué de 95.66 ($p < 0.05$) con una pendiente de 1.26.

Los resultados son presentados en el siguiente cuadro:

INHIBICION DE LA HEMOAGLUTINACION Y MICROSUERONEUTRALIZACION EN 8 ANIMALES INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON EL PARAMYXOVIRUS DE OJO AZUL

DÍAS ANTES Y DESPUES DE LA INFECCION	NUMERO DE ANIMALES	PRUEBA	
		IHA	MSN
13	7	2	3
		4	4
		-	16
		-	32
		8	10
15	3	-	5
		3	5
		6	9
		8	12
		5	7
19	3	8	9
		5	6
		4	5
		8	12
27	4	7	9
		7	12
		4	5
		6	9
33	6	6	8
		5	5
		5	7
		8	12
		6	9
40	5	7	9
		7	9
		6	6
		4	7
47	4	6	9
		7	8
		5	6
		4	5

IHA: Inhibición de la hemoaglutinación

MSN: Microsueroneutralización

DISCUSION

Con base a lo anterior se observó en los títulos neutralizantes que existe una diferencia promedio de 2 diluciones en comparación con la técnica de inhibición de la hemoaglutinación, es decir, que si en MSN hay un título de 1:32, este equivaldría a 1:8 en IHA, por lo tanto, esto nos puede estar indicando que en IHA toda dilución menor a 1:8 sería inespecífica y menor a 1:32 para MSN, pudiendo determinarse este como el punto de corte para la MSN.

LITERATURA CITADA

- 1.-Fletcher, A. Epidemiología Clínica (1978)
- 2.-Hird. Curso Intermedio de Epidemiología (1995)
- 3.-Joo, S., Donaldson-Wood, C.R. and Johnson, R.H. Arch. Virol. (1975)
- 4.-Rivera, C., Sjosten, G. Bergman, R. and Karlsson, A. Res. Vet. Sc. (1986)