

COMPARACION DE LA HEMAGLUTINACION INDIRECTA CON LAS PRUEBAS DE ELISA Y SUERO NEUTRALIZACION PARA EL DIAGNOSTICO DE LA ENFERMEDAD DE AUJESZKY

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

DEPTO. DE PRODUCCION ANIMAL: CERDOS. FAC. DE MED. VET. Y ZOOT. UNAM. MEXICO, D.F. 04510

INTRODUCCION

La Enfermedad de Aujeszky (EA), es causada por un herpesvirus, que se caracteriza en los lechones por signos clínicos nerviosos, respiratorios, fiebre y muerte del 100%; en animales del destete a la engorda se presentan signos respiratorios con mortalidad alrededor del 10 al 15%, y en los adultos ocasiona mortalidad del 2% y se ha asociado a trastornos respiratorios y reproductivos (2). Las pruebas serológicas que se utilizan para la detección de anticuerpos contra EA son Virus Suero Neutralización (VSN) que es sensible pero los resultados se obtienen mínimo en una semana; ELISA es otra prueba la cual es sensible y se pueden trabajar un gran número de sueros (2).

Otra prueba serológica para el diagnóstico de EA es la Hemaglutinación Indirecta (HAI). Esta prueba puede ser realizada con equipo común de laboratorio, es una prueba sensible ya que es capaz de detectar cantidades muy pequeñas de anticuerpos (0.02 a 0.04 mg), además de que se pueden probar un gran número de sueros al utilizar el método de microtitulación y los resultados se obtienen en 2 horas (1).

MATERIAL Y METODOS

HEMAGLUTINACION INDIRECTA (HAI)

Los sueros son inactivados a 56°C durante 30 min., se adsorben con 0.100 ml de glóbulos rojos de ovino.

El antígeno en la prueba se utilizó a una dilución 1:400 (previa titulación).

El ácido tánico se diluyó 1:80000 (previa titulación).

Tanizado y Sensibilización de Glóbulos Rojos de Ovino:

- Se preparó una suspensión de glóbulos rojos de ovino al 2.5%.
- Se adicionó un volumen igual de ácido tánico 1:80000 y se incubó a 37°C durante 15 minutos.
- Se lavaron los glóbulos rojos de ovino 3 veces con SSF pH 7.2 a 1000 rpm por 10 minutos.
- Los glóbulos rojos de ovino se sensibilizan agregando un volumen igual de la dilución óptima del antígeno en SSF pH 6.4 y se incubó a 37°C durante 15 minutos.
- Se lavan los glóbulos rojos de ovino 3 veces con SSF pH 7.2 a 1000 rpm por 10 minutos.

Para la dilución del suero se utiliza suero normal de conejo al 1% en volumen de 0.050 ml.

Se diluye el suero problema en volumen de 0.050 ml.

Se adiciona 0.50 ml de glóbulos rojos de ovino sensibilizados al 2% y se incubó por 2 horas a temperatura ambiente.

Los controles de la prueba son suero positivo, suero negativo, glóbulos rojos de ovino tanizados, glóbulos rojos de ovino sensibilizados y glóbulos rojos de ovino normales.

Se consideró como suero positivo a partir de la dilución 1:8.

ELISA

La técnica de ELISA de g1(+) se realizó de acuerdo al manual del "Kit" para la detección de anticuerpos frente al anticuerpo gp1 del virus de la Enfermedad de Aujeszky (HerdChek Anti-ADV gp1, IDEXX, Laboratorio, Inc. Maine, U.S.A).

VIRUS SUERO NEUTRALIZACION (VSN)

Se hicieron diluciones dobles del suero desde 1:2 hasta 1:256 con un volumen de 0.050 ml de virus con 300 DICC. Se incubó 1 hora a temperatura ambiente. Se agregó a cada pozo 0.150 ml de medio con células (100000 células/ml). Se leyeron las placas a las 96 horas. Se consideró como suero positivo a partir de una dilución 1:2.

RESULTADOS

Los sueros se evaluaron con técnicas de HAI, ELISA y VSN, siendo estas 2 últimas consideradas como pruebas de referencia, se obtuvieron los resultados que se muestran en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Comparación de la VSN y la HAI

		VSN		
		+	-	Total
	+	120	26	146
HAI				
	-	4	240	244
	Total	124	266	390

Sensibilidad 96.7%
Especificidad 90.2%

Cuadro 2. Comparación de ELISA y la HAI

		ELISA		
		+	-	Total
	+	134	24	158
HAI				
	-	3	229	232
	Total	137	253	390

Sensibilidad 97.8%
Especificidad 90.5%

DISCUSION

La técnica de VSN es utilizada como técnica de referencia aún para la estandarización de técnicas más sensibles como lo es ELISA. En este caso la técnica de HAI obtuvo una alta sensibilidad y especificidad al compararse con la prueba de referencia (VSN) y también lo fue con la ELISA.

Actualmente en México existe una campaña para el control y erradicación de la EA utilizando la prueba de ELISA con detección de la glicoproteína g1, sin embargo existen granjas con la enfermedad en donde no realizan seguimiento serológico por el alto costo de la prueba. La HAI puede ser usada en la toma de decisiones dentro del manejo de la granja por lo que puede ser utilizada como prueba tamiz para el diagnóstico de Aujeszky.

BIBLIOGRAFIA

- Haffer, K., Gustafson, D. P., (1980) J. Clin. Microbiol. 11:217-219.
- Kluge, J. E., Beran, G. W., Hill, H. T., Platt, K. B., (1992) Iowa State University Press, 312-323