

VALIDACION DE UNA NUEVA PRUEBA DE ANILLO DE *Salmonella cholerasuis* PARA EL DIAGNOSTICO SEROLOGICO EN GRANJAS.

¹Ciprián CA*, ¹Castillo CJ, ¹Hernández BE, ¹Alonso HR, ¹Domínguez AM, ¹Oliva MD, ³Lara-Puente JH, ¹Mendoza ES.

¹FES-Cuautitlán-UNAM. ³Boehringer-Ingelheim, México.

Introducción. Los cerdos infectados en forma subclínica con *Salmonella cholerasuis* son considerados como la fuente mas importante de infección. La forma de infección es una fuente que acarrea dos tipos de problemas: como enfermedad que afecta al cerdo produciéndole una "salmonelosis" en donde *S. cholerasuis* es el agente principal, sin olvidar a *S. typhisuis* y *S. typhimurium*, y el otro problema de salud pública ya que la "salmonelosis" es una enfermedad zoonótica, en donde una granja infectada puede actuar como una fuente de infección para los humanos. *Salmonella cholerasuis* es una especie que pertenece a la Genero Salmonella y como bacilo Gram-negativo, esta relacionado tanto morfológica como fisiológicamente con otros Generos de la Enterobacteriaceae, no fermentan la lactosa, sacarosa, no producen indol, MR positivos VP negativos. Los cerdos en las granjas se infectan a partir del alimento en donde frecuentemente están *S. typhimurium*, *S. derby*, *S. saintpaul*, *S. heidelberg*, todas ellas producen infecciones asintomáticas de importancia en salud pública. El diagnóstico de laboratorio de *S. cholerasuis* es difícil ya que se desarrolla pobremente en medios selectivos y algunos otros lo inhiben. El objetivo de este estudio fue el evaluar una prueba de anillo con sangre completa con un antígeno de *S. cholerasuis* para el diagnóstico serológico de salmonelosis in cerdos (5,6).

Material y métodos. Estudio I. Para la preparación del antígeno se utilizó una cepa de referencia de *S. cholerasuis* ATCC 7001, la cual fue cultivada en varios medios enriquecidos para determinar su mejor crecimiento; con la cepa aislada se determinó y se confirmó la especie por pruebas bioquímicas (3,4). Se preparo un primer inóculo de 500 ml de un caldo nutritivo, que fue inoculado a un fermentador de 20 L para obtener mas biomasa. Los cultivos fueron inactivados con formaldehído toda la noche y se lavaron varias veces por centrifugación hasta obtener una biomasa purificada. El antígeno fue acondicionado en varias soluciones tamponadas, a varias soluciones con diferentes pH y teñidos con azul de Coomassie (AC) o Rosa de Bengala (RB).

Estudio II. Se muestrearon 495 cerdos de una granja y se les hizo la prueba con sangre completa y con suero utilizando los antígenos de AC y RB respectivamente.

Estudio III. En el tercer estudio, fueron utilizados ocho cerdos recién destetados, sin anticuerpos contra *S. cholerasuis* por ELISA. Cuatro cerdos fueron desafiados por nebulización con 8×10^6 CFU/ml de *S. cholerasuis* en una cámara de aerosoles. Las muestras de sangre y suero fueron tomadas a los días 1, 7, 14, 21 y 28 postinfección, todas las muestras fueron probadas con los antígenos de AC y RB. El aislamiento e identificación de *S. cholerasuis* fue intentado en todos los animales a partir de las heces fecales de los días 1, 7, 14, 21 y 28, y de los animales sacrificados a partir de los linfonodos ilececales, bazo e hígado. A partir de los aislamientos de *Salmonella* sp se realizaron aglutinaciones con antisuero polivalente de *Salmonella* O poly B (grupos C₁, C₂, F, G y H) (Difco Laboratories: 2535-47-5) y antisuero *Salmonella* Vi (Difco Laboratories: 2827-47-2) (3,4).

Resultados y discusión. Estudio I. Posterior a su identificación, los cultivos de *S. cholerasuis* se pasaron a 18 lts en caldo y a 20 lts en un fermentador. En estos cultivos se obtuvo 26.38 g biomasa o antígeno. La biomasa fue dividida en dos partes y suspendida en solución salina formolinizada para su inactivación, y el antígeno resultante de AC y RB fue ajustado a una concentración del 11% (1,2).

Estudio II. Las pruebas de aglutinación con sangre completa (AC) y con suero (RB) revelaron: AC = 23.83% positivo y 77.18 negativo; RB = 21.81% positivo, 78.18 negativo, la correlación entre los dos antígenos utilizando sangre o suero fue del 98.79% (1,2).

Estudio III: De las 20 muestras de heces de los animales desafiados solo en un 15% se logró su aislamiento e invariablemente se recuperó en los 4 cerdos. A partir de los tejidos, la salmonella se aisló principalmente de los linfonodos ileocecales en un 80%. La identificación de las salmonelas recuperadas, y realizadas con los antisueros mostró que solo con el antisuero polivalente de *Salmonella* O poly B fueron positivas, mientras que con antisuero *Salmonella* Vi fueron negativas. El diagnóstico serológico realizado con los antígenos AC y RB mostró positividad en todos los animales a partir del día 21. El análisis estadístico de X^2 mostró que la prueba tuvo una sensibilidad del 84% y una especificidad del 95%.

Implicaciones. La prueba de anillo con antígeno AC de *S. choleraesuis* puede ser utilizada como una prueba tamiz de aglutinación rápida, que se puede hacer directamente en la granja sin necesidad de utilizar muchos reactivos y equipo costoso. Con la misma finalidad, el antígeno de RB de *S. choleraesuis* puede ser utilizado en el laboratorio usando solo suero.

Agradecimientos. Por su apoyo técnico al Sr. Gabino Sánchez, MVZ David Trujillo y al Ing. Draucin Jiménez.

Referencias.

- 1.- Castillo CJ, Ciprián CA, *et al.*, 2001. Memorias de la AMVEC, Querétaro, Qro., México. p. 49;
- 2.- Castillo CJ, Mendoza ES, *et al.*, 2001. Memorias de la AMVEC, Quereéaro, Qro., México. p. 50;
- 3.- Committee on Salmonella. 1969. Washington, D.C. Nat. Acad. Sci.;
- 4.- Edwards PR and Ewing WH. 1972. Third Ed. Minneapolis: Burgess, PP. 146-207;
- 5.- Schwartz KJ. 1991. Compend. Contin. Educ. 13 (1): 139-148;
- 6.- Schwartz KJ. 1997. Procc AASP, Quebec City, Quebec.