

COMPARACIÓN DE PCR Y AISLAMIENTO PARA EL DIAGNOSTICO DE *Haemophilus parasuis*
Ortega GR, Chapa BJ, Rodríguez GE, González EN, Contreras LNB*
INVESTIGACIÓN APLICADA S.A. DE. C.V.

INTRODUCCIÓN. La enfermedad de Glässer fue descrita en 1910 por K. Glässer, en Alemania, como una inflamación fibrinosa de las articulaciones de los cerdos jóvenes, asociada a condiciones estresantes de manejo o traslado, con alta mortalidad.

Etiológicamente *Haemophilus parasuis* es una bacteria lábil, son bacilos o coco bacilos pleuroformicos con presencia de formas filamentosas. Su longitud es variable, de 1 a 7 µm de largo por 0.2 a 2 µm de ancho. Son microorganismos gram negativos con cápsula o sin ella, dependientes para su crecimiento del factor X de coagulación de la sangre y del factor V, NAD.

Ocasionalmente se ha podido demostrar su condición de agente etiológico respiratorio primario, especialmente en casos de bronconeumonía fibrinosupurativa. En cualquier caso, parece claro que el tracto respiratorio actúa como puerta de entrada del microorganismo; desde el que en ocasiones se produce la infección sistemática generalizada, y por tanto, la enfermedad clínica, cuyas lesiones son: artritis crónica, pericarditis, fallo cardíaco congestivo, meningitis y obstrucciones intestinales después de adhesiones fibrinosas; y microscópicamente, el exudado consiste en fibrina, neutrófilos y macrófagos en menor cantidad, pleuresía fibrinosa, pericarditis fibrinosa, peritonitis y meningitis purulenta.

En la actualidad, se considera uno de los problemas porcinos emergentes de gran interés económico y científico, asociado con determinadas prácticas de manejo ligadas a explotaciones calificadas como "excelentes" desde el punto de vista sanitario. En este tipo de granjas la enfermedad aparece de forma fulminante, con muertes súbitas que, y en ocasiones, adquieren niveles preocupantes.

Actualmente se cuenta con la Reacción en cadena de la Polimerasa (PCR), que detecta patógenos difíciles de aislar o cultivar como virus y bacterias (*PRSS*, *Mycoplasma* y en este caso *Haemophilus parasuis*) a partir de diferentes tipos de muestras,

El objetivo de este trabajo es el empleo la PCR como método capaz de detectar la presencia de *Haemophilus parasuis*, en términos comparativos a un aislamiento común.

MATERIAL Y METODOS. Para este trabajo se utilizaron 69 muestras de órganos de cerdos destinadas para aislamiento de *Haemophilus parasuis*. Los órganos analizados fueron Pulmón, Tráquea, Cerebro y Líquido cefalorraquídeo; se sembraron en agar sangre, incubando de 24-72 horas. A la par y para confirmar que se trataba del agente, las muestras se maceraron en ICC y se trabajaron por PCR, extrayendo, amplificando, y reafirmando la presencia de los fragmentos esperados por electroforesis.

RESULTADOS. Los resultados comparativos entre aislamiento y PCR fueron muy notorios. Las 69 muestras se

dividieron en cinco ensayos como se muestra en la siguiente tabla.

Ensayo	No. de Muestras	Aislamientos (+)	PCR (+)
1	10	1	5
2	22	2	5
3	10	0	6
4	20	2	5
5	7	1	6

El porcentaje de aislamientos positivos fue del 8.7 % y la detección por PCR fue del 39.1 %

DISCUSION. De acuerdo a los resultados obtenidos, por PCR obtuvimos más casos positivos que en el aislamiento; que necesita de mas tiempo para definir una respuesta. Es común que se espere un aislamiento positivo después de ver la signología nerviosa respiratoria del cerdo y lesiones compatibles con *Haemophilus parasuis*, pero por lo general no se obtiene dicho resultado. El interés por una respuesta concreta para el porcicultor, nos llevo a realizar este estudio a la par con la PCR, lo que conlleva a darnos cuenta de la precisión que podemos obtener en un resultado, y solo en horas, ya que el aislamiento requiere de mas tiempo; el esperar una respuesta tardía puede afectar en aspectos importantes como el económico.

La prueba de PCR nos permite que a partir de un solo fragmento de ADN, se pueda replicar y detectar sin posibles errores al microorganismo, esta prueba es confirmativa y precisa para confirmar la presencia o ausencia de la bacteria, sean o no significativas las lesiones y los signos clínicos e incluso con medicación.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. C. B. Gutiérrez 1, V. A. de la Puente 1, N. García del Blanco 1, J. Navas 2, C. Paniagua 1, M. L. del Río 1, J. L. Monter 1 y J. N. García de la Fuente 1. Meningitis bacterianas del cerdo: Enfermedad de Glässer
- 2. Dra. Gemma Rodríguez Tarduchy y María Concepción Secuenciación automática del ADN.
- 3. Korczak, B., Christensen, H., Frey, J. and Kuhnert, P. Kuhnert, P. Institute of Veterinary Bacteriology, University of Bern, Laenggass-Str. *Haemophilus parasuis* strain Bakos A9 RpoB (rpoB) gene.
- 4. Oliveira S, Galina L y Pijoan C Development of a PCR test to diagnose *Haemophilus parasuis* infection.