



EVALUACIÓN DE PRUEBAS SEROLÓGICAS PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD DEL OJO AZUL

*Rivera-Benitez, F¹., Martínez-Bautista, R¹., García, A²., Reyes-Leyva, J³., Hernández, J⁴., Ramírez-Mendoza, H¹.
¹Laboratorio de Virología, FMVZ-UNAM. ²UAM-X. ³CIBIOR-IMMS. ⁴CIAD. AC.

INTRODUCCIÓN

El diagnóstico serológico para la enfermedad del ojo azul (EOA) se ha realizado de forma tradicional empleando pruebas que utilizan antígenos activos en su elaboración. De tal manera que pruebas como la inhibición de la hemaglutinación (IHA) y seroneutralización (SN) son utilizadas frecuentemente, sin embargo, los resultados dependen en gran medida de la capacidad técnica del laboratorio. Existen pruebas como la inmunoperoxidasa (IP) la cual es comercializada por PRONABIVE, dicho kit de diagnóstico presenta la desventaja de no poder cuantificar los títulos de anticuerpos en las muestras y de generar una gran cantidad de falsos negativos debido a la dilución en la que es utilizado el suero. En la actualidad es necesario establecer una prueba que sea de fácil acceso y realización. El objetivo del presente estudio fue evaluar cuatro (IHA, SN, IP e IFA) pruebas de serodiagnóstico para la enfermedad del ojo azul bajo condiciones experimentales.

MATERIAL Y METODOS

Muestras. Se emplearon 202 sueros de 12 cerdos, los cuales fueron colectados durante dos semanas previas a la infección y por 20 semanas pi.

Infección experimental. Para la infección experimental se utilizó el aislamiento PAC3 del RVP, cada cerdo fue infectado instilando por vía intranasal 5 ml de la cepa PAC3 del RVP a una dosis de 10^5 DICC₅₀/ml.

IHA. La inhibición de la hemaglutinación se realizó empleando 8 y 16 UHA, la prueba se realizó de acuerdo a lo descrito por Hernández et al. (1997) y Ramírez et al. (1996). El punto de corte para la prueba con 8 UHA fue de 1:8 y de 0 para la prueba con 16 UHA.

SN. La seroneutralización se realizó con 300DICC₅₀, la prueba se llevó a cabo utilizando células MDCK, la neutralización viral se midió mediante la observación del efecto citopático y hemaglutinación empleando eritrocitos de bovino y ave al 0.5%.

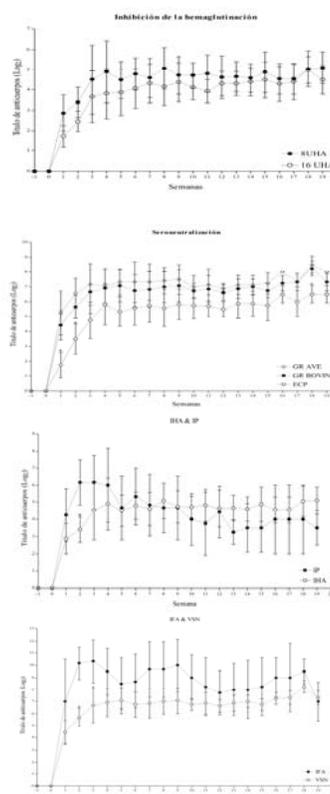
IP. Se elaboraron placas de células MDCK infectadas con el RVP, se utilizó proteína A peroxidada para marcar los anticuerpos contra el RVP. Las placas fueron leídas con el objetivo 20X en microscopio de campo claro.

IFA. Se utilizaron placas de cultivo con células MDCK infectadas con el RVP. Como anticuerpo secundario se utilizó un anti-cerdo fluoresceinado elaborado en cabra. Las placas fueron observadas en un microscopio de fluorescencia con el objetivo 40X.

Todos los sueros se colocaron realizando diluciones dobles seriadas. Los resultados fueron convertidos a logaritmo base dos y analizados estadísticamente con el paquete SPSS 10.0.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos de las pruebas se observan en las figuras 1-4. Para la prueba de IHA se observa que no existen diferencias las dos combinaciones realizadas. Para la SN existieron diferencias en solo tres semanas evaluadas, reflejando un menor título de anticuerpos al observar el ECP. La prueba de IP resultó similar a la IHA, mostrando diferencias únicamente en una semana evaluada. Para la prueba de IFA los resultados son similares a la SN, excepto en dos semanas evaluadas, en donde el título de anticuerpos neutralizantes fue menor.



CONCLUSIÓN

Los resultados indican que no existen diferencias entre las pruebas de IHA e IP, del mismo modo entre la SN e IFA, lo cual permite bajo condiciones óptimas poder emplear cualquiera de estas técnicas en zonas en donde se presenta la enfermedad o no, sin correr ningún riesgo al manejar el virus inactivado.

REFERENCIAS

Hernandez et al., 1988. *Vet. Immunol. Immunopath.* 64: 367-381. Ramírez et al., 1996. *Vet. Méx.* 27:257-259.