

COMPORTAMIENTO DIAGNÓSTICO DE UNA ELISA COMERCIAL PARA DETECTAR ANTICUERPOS CONTRA PRRS EN SUERO ADAPTADA A MUESTRAS DE FLUIDOS ORALES: ESTUDIOS EXPERIMENTALES Y DE CAMPO

A. Kittawornrat¹, J. Prickett¹, C. Wang^{1,2}, C. Olsen¹, C. Irwin¹, Y. Panyasing¹, A. Ballagi³,
A. Rice³, R. Rowland⁴, J. Zimmerman¹

¹Department of Veterinary Diagnostic and Production Animal Medicine, Iowa State University, Ames, IA

²Department of Statistics, College of Liberal Arts and Sciences, Iowa State University, Ames, IA

³IDEXX Laboratories, Inc., Westbrook, Maine 04092

⁴Department of Diagnostic Medicine and Pathobiology, Kansas State University, Manhattan, KS
jjzimm@iastate.edu

¿Detección de anticuerpos en los fluidos orales porcinos?

El primer informe de anticuerpos en los fluidos orales de cerdos se publicó en 1976 cuando se informó de que la exposición intranasal de cerdos a la cepa Thiverval del virus de la fiebre porcina clásica (CSFV) produjo niveles detectables de anticuerpos en suero y fluidos orales (Cotherie 1976; Corthier y Aynaud, 1977).

Otros informes: DeBuysscher y Dubois (1978) expusieron cerdos con la cepa 1261 de *E. coli* por vía oral o por asa intestinal, posteriormente buscó isotipos IgA, IgM e IgG específicos en células plasmáticas de las glándulas salivales submandibular y sublinguales. Células plasmáticas secretoras de IgA fueron las más abundantes seguidos por aproximadamente el mismo número de células secretoras de IgM e IgG. No se encontraron diferencias en el número y el isotipo de células de plasma entre cerdos inoculados oralmente o por asa intestinal. DeBuysscher y Berman (1980) realizaron esencialmente el mismo experimento unos años más tarde, pero con gastroenteritis transmisible virus (TGEV) y encontraron sustancial incremento en el número de células secretoras de IgA, IgM e IgG células en glándulas salivales en cerdos oral e intestinalmente inoculados. Estos resultados soportan la idea que las infecciones en los tejidos "distantes" producen una respuesta de anticuerpos que podría ser detectada en las muestras de fluidos orales.

Loftager et al (1993) colectaron muestras de cerdos inoculados intranasalmente con *Actinobacillus pleuropneumoniae* (APP) y cerdos infectados naturalmente con APP. Anticuerpos IgA fue detectable en fluidos orales antes de que aparecieran en el suero. Su conclusión fue que la detección de IgA en fluidos orales podría servir como un método práctico para detectar infección temprana con APP

Comportamiento de ELISA PRRS X 3 en muestras experimentales

Previamente informamos que una ELISA comercial para PRRS (HerdChek® PRRS X 3 ELISA) fue adaptada para detectar anti-PRRSV IgM, IgA e IgG en muestras de fluidos orales. Además, que el protocolo de ELISA para detectar IgG en fluidos orales era compatible con el trabajo rutinario en los laboratorios de diagnóstico de alto rendimiento. Esto sugiere la posibilidad de un método rentable para supervisar rutinariamente las poblaciones porcinas comerciales para anticuerpos maternos, vacunaciones y parámetros inmunes de hato mediante muestreo de fluidos orales. El objetivo de este estudio fue evaluar la capacidad de la PRRS X 3 IgG fluido oral ELISA para detectar perfiles de anticuerpos IgG anti-PRRSV en muestras de fluidos orales basados en muestreos por corrales de cerdos inoculados.

Materiales y métodos En nueve ensayos, ~ 200 cerdos por ensayos, fueron intramuscular (IM) inoculados con el aislamiento NVSL 97-7895 de PRRSV. Se tomaron muestras de fluido orales de 0, 5, 7, 9, 11, 14, 17 y 21 días post inoculación (DPI). Todas las muestras de fluidos orales fueron aleatorizadas y analizadas para anticuerpos anti-PRRSV mediante el Protocolo de PRRS ELISA para fluidos orales: dilución 1:2 de la muestra de fluido oral, incubación de 16 horas a 4 ° C, reacción detectada utilizando anti-swine IgG_{FC}).

Resultados...Anticuerpos IgG anti-PRRSV fueron detectados tan temprano como 7 DPI y todas las muestras fueron positivas a 9 DPI. Estos resultados indican que la ontogenia de los anticuerpos anti-PRRSV en líquido oral es susceptible a rápida detección de infección. Pruebas basadas en fluidos orales podrían proporcionar un enfoque eficiente y rentable para monitoreo en poblaciones porcinas comerciales y vigilancia epidemiológica en los programas de eliminación de PRRSV.

Comportamiento de ELISA PRRS X 3 en muestras de campo

El objetivo de este estudio fue evaluar la capacidad del ensayo para detectar anticuerpos IgG anti-PRRSV en muestras fluidos orales basado en muestreo por corrales en condiciones de campo

Materiales y métodos.....Muestras positivas derivadas de un estudio de campo longitudinal en 10 casetas comercial en el área de destete-finalización (Ramírez et al, 2011). En cada sitio, se recogieron muestras de fluidos orales de los mismos corrales a intervalos de dos semanas (total de 10 puntos de muestreo por casetas).

La definición de "positivo verdadero " siempre es un problema en muestras de campo. En este estudio, las muestras "positiva verdadera" de fluidos orales fueron definidas como todas las muestras recogidas de un corral después del primer muestreo PRRSV PCR en fluidos orales (n = 250). Fluidos orales negativos (n = 284) fueron muestras remitidas al laboratorio de diagnóstico VLD ISU para PRRSV qRT-PCR de piaras esperadas negativas.

Resultados De las 284 muestras de campo esperadas negativas, todas fueron negativas en la prueba de ELISA IgG (S/P < 0,40). 223 de 250 muestra muestras esperadas positivas fueron positivas. Los 27 resultados negativos previstos muestras positivas fueron de corrales que inicialmente dieron positivo y se convirtió en negativo con el tiempo. Los resultados indicaron que anticuerpos anti-PRRSV puede detectarse eficazmente en fluidos orales mediante la prueba de ELISA IgG

CONCLUSIONES

Acumulativamente, estos resultados indican que la ontogenia de los anticuerpos anti-PRRSV en fluidos oral son confiables para la rápida detección de infección. Pruebas basadas en fluidos orales podrían proporcionar un enfoque eficiente y rentable para monitoreo en rebaños comerciales y vigilancia en los programas de eliminación de PRRSV.

REFERENCES

- Corthier G, Aynaud J. 1977. Comparison of the immune response in serum and bucco-pharyngeal secretions following immunization by different routes with a live hog cholera virus vaccine (Thiverval strain). *Annals of Veterinary Research* 8:159-165.
- Corthier G. 1976. Swine fever: influence of passive immunity on pig immune response following vaccination with a live virus vaccine (Thiverval strain). *Annals of Veterinary Research* 7:361-372.
- DeBuysscher E, Berman D. 1980. Secretory immune response in intestinal mucosa and salivary gland after experimental infection of pigs with transmissible gastroenteritis virus. *American Journal of Veterinary Research* 41:1214-1220.
- DeBuysscher E, Dubois R. (1978). Detection of IgA anti-Escherichia coli plasma cells in the intestine and salivary glands of pigs orally and locally infected with *E. coli*. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 107:593-600.
- Loftager M, Eriksen L, Nielsen R. (1993). Antibodies against *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 2 in mucosal secretions and sera of infected pigs as demonstrated by an enzyme-linked immunosorbent assay. *Research in Veterinary Science* 54:57-62.
- Ramirez A, Wang C, Prickett JR, et al. 2011. Efficient surveillance of pig populations using oral fluids. *Prev Vet Med* (submitted)