

# USO DE SEROLOGIA Y N-PCR PARA LA DETECCION DE *Actinobacillus pleuropneumoniae* EN PIARA DE ALTO NIVEL SANITARIO

Tamiozzo\*, P.<sup>1</sup>; Carranza, A.<sup>1</sup>; Pereyra, N.<sup>1</sup>; Pelliza, B.<sup>1</sup>; Di Cola, G.<sup>1</sup>; Ambrogi, R.<sup>1</sup>; Chanique, A.<sup>1</sup>; Ambrogi, A.<sup>1</sup>

1-Departamento Patología Animal. Facultad de Agronomía y Veterinaria. Universidad Nacional de Río Cuarto.

Ruta 36 Km 601. Río Cuarto. Córdoba. República Argentina.

\*e-mail: ptamiozzo@ayv.unrc.edu.ar

## INTRODUCCIÓN

La pleuropneumonía contagiosa porcina es causada por el *Actinobacillus pleuropneumoniae* (App) (1). La detección del agente puede ser difícil cuando se trabaja con animales asintomáticos. El aislamiento es el diagnóstico de certeza, pero existen otras técnicas más sensibles como el aislamiento inmunomagnético (2) o la reacción en cadena de la polimerasa (PCR por sus siglas en inglés) (3). ELISA (por sus siglas en inglés) es la técnica más usada en el monitoreo de piaras contra App. ApxIV es una de ellas y por su bajo costo, su disponibilidad en el mercado y su capacidad de detectar todos los serotipos, es una herramienta de *screening* (4), aunque esté parcialmente validada a campo (5,6). El objetivo del presente estudio fue monitorear serológicamente y por PCR cerdos asintomáticos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Antecedentes y Animales:** Los cerdos provenían de un establecimiento con antecedentes de App, donde fue aislado el serotipo 15 (7), en el cual se llevó a cabo un plan de erradicación de *Mycoplasma hyopneumoniae* (8). Los mismos se destetaron entre los 7 y 9 días de edad, tratados con antibióticos y llevados a un establecimiento que poblaba sus instalaciones nuevas con grupos de 720 animales por semana aprox. Se escogieron para este estudio 10 grupos de 100 animales c/u, los que fueron sangrados a los 150 días de vida. Una vez en el laboratorio, las muestras de sangre, fueron procesadas por el Kit ELISA App-ApxIV Chekit® de Idexx. Durante la vida de los animales fueron supervisados en busca de síntomas clínicos. Cincuenta animales del grupo 1 y 29 del grupo 2 fueron muestreados en matadero y sus tonsilas procesadas por N-PCR previo cultivo en PPLO agar (10).

## RESULTADOS

GRUPO	ELISA + / TOTAL	%	N-PCR pre-Cultivo + / TOTAL	%
1	0/100	0	5/50	10
2	0/100	0	3/29	10,3
3	4/100	4	N/P	-
4	1/100	1	N/P	-
5	1/100	1	N/P	-
6	2/100	2	N/P	-
7	1/100	1	N/P	-
8	1/100	1	N/P	-
9	2/100	2	N/P	-
10	2/100	2	N/P	-
<b>TOTAL</b>	<b>14/1000</b>	<b>1.4</b>	<b>8/79</b>	<b>10.1</b>

## Cuadro 1. Resultados ELISA ApxIV y N-PCR pre cultivo. Positivos sobre total y porcentaje. N/P: No procesados.

Los resultados de la serología de los 10 grupos se muestran y de N-PCR previo cultivo de tonsila de los grupos 1 y 2 se muestran en el cuadro 1 (positivos sobre el total de muestreados y porcentaje). No se observaron signos clínicos en los animales.

## DISCUSIÓN

En cuanto a la serología, en 8 de los 10 grupos hubo al menos un animal positivo, y en ninguno, más de 4, hecho que podría atribuirse a la sensibilidad del kit usado (95%), pudiéndose tratar de falsos positivos. Estos resultados concuerdan con otros estudios (9), en condiciones similares donde también se monitoreo serológicamente utilizando el mismo ELISA, dando resultados negativos en animales de la misma edad. En ese caso los resultados serológicos serían coherentes con la no aparición de síntomas, ya que no hay infección, por lo tanto no hay anticuerpos contra la toxina ApxIV (que se expresa solo en infecciones activas de App), que es justamente lo que detecta el kit de ELISA utilizado, sino que los microorganismos estarían acantonados en tonsilas, siendo los cerdos portadores asintomáticos, como se demostrara con el N-PCR de las tonsilas, ya que el agente fue identificado en los grupos 1 y 2. El N-PCR usado, detecta un fragmento del gen que codifica para la proteína ApxIV quizás la proteína no se exprese, puesto que los App no están produciendo una infección, o la cantidad de microorganismos sea muy poca como para producir la infección y generara así anticuerpos. El uso de ELISA-ApxIV sería útil como herramienta de *screening*, pero en piaras que gozan de un buen nivel sanitario, donde los animales no presentan síntomas habría que considerar, otras técnicas como ELISA LC-LPS, la PCR o aislamiento, para un conocimiento más profundo de lo que ocurre con App antes de declarar una granja libre del agente.

## BIBLIOGRAFÍA

- 1- Taylor D.J. 1999. En Disease of swine. 8<sup>th</sup> Ed: 343-354.
- 2- Gagné, A. et al. 1998. J. Clin. Microbiol. 36(1): 251-254.
- 3- Schaller, A. et al. 2001. Vet. Microbiol. 79: 47-62.
- 4- Broe, A. et al. 2007. J.S.H.P.15 (5): 264-269.
- 5- Gottschalk, M. 2007. Proc. AASV. 381-384. Florida.
- 6- Dreyfus, A. 2004. Vet. Microbiol. 99: 227-238.
- 7- Zieliński, G. et al. 2006. Rev. Arg. Med. Vet. 87 (4): 147-150.
- 8- Tamiozzo P et al. 2006. 19<sup>th</sup> IPVS congress. P.27.06.
- 9- Di cola, G. 2006. 7<sup>mo</sup> CNPP. 296.
- 10- Tamiozzo, P. et al. 2007. 13 ABRAVES.SC. Brazil.