

# UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

---

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



**"ESTUDIO COMPARATIVO DE LAS PRUEBAS INTRADERMO-  
REACCION Y SUERONEUTRALIZACION PARA EL DIAG-  
NOSTICO DE LA ENFERMEDAD DE AUJESZKY"**

## **TESIS PROFESIONAL**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

**MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA**

**P R E S E N T A :**

**ALICIA ISABEL MORENO SALAZAR**

**GUADALAJARA, JALISCO, 1978**

A MIS PADRES:

Sra. Josefina S. de Moreno.

Sr. Aurelio Moreno S.

Que todo les debo.

A MIS HERMANOS:

Alejandro,

Alberto,

Alfonso,

Amelia,

Cristina,

Arturo.

A MIS MAESTROS:

Por el tiempo que me  
dedicaron.

AL M.V.Z. ATANASIO ALVARADO G.

Por su cooperación.

Con todo respeto para mi Asesor:

**M.V.Z. JAVIER RIVERA HERNANDEZ.**

A CARLOS.

# I N D I C E

CAPITULO:	C O N T E N I D O :	PAGINA:
	INTRODUCCION.	8
I	MATERIAL Y METODO.	13
II	RESULTADOS.	19
III	DISCUSION.	25
IV	CONCLUSIONES.	29
V	SUMARIO.	31
VI	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.	33



OFICINA DE  
DIFUSION CIENTIFICA

## I N T R O D U C C I O N

La reacción de Sueroneutralización, es una prueba clásica, ya que se ha venido usando por mucho tiempo y consiste en emplear un virus conocido, al que se añade suero problema. Si existen en el suero anticuerpos que se correspondan con el virus, éste resulta neutralizado o pierde su poder infectante. (6)

Los inconvenientes que podemos encontrar en esta prueba son: costo (reactivos, material de vidriería animales de laboratorio, etc.) y tiempo: (los resultados se obtienen de 72 a 120 horas).

La prueba intradermoreacción es una prueba nueva, la cual consiste en aplicar un antígeno conteniendo virus del grupo Herpes, ya sea intradérmicamente inyectada. Esto se demostró en humanos, aves y ganado. - (8).

Las ventajas que encontramos son: Es más económica, fácil de aplicar y rápida.

La Pseudorabia es una enfermedad infecciosa aguda, causada por un virus del grupo Herpes. Ataca a ca-

si todas las especies de animales domésticos. Se manifiesta por un proceso general febril, con signos de una encefalomiелitis, caracterizándose en el ganado vacuno, perros, gatos y animales de laboratorio, por un intenso prurito. En el cerdo produce un cuadro morboso muy variable, en animales adultos la enfermedad se presenta en forma "silenciosa"; en ocasiones se observa un estado general febril, acompañado de grandecaimiento y a veces vómito. Los lechones presentan una enfermedad mortal, que se caracteriza por pирexia vómito, diarrea, ataxia, espasmos, opistotonos, parálisis, coma y muerte, (curso de 6 a 36 horas). La morbilidad de un 100 % y la mortalidad de un 80 a 100 % - (4).

En 1902, el científico Aujeszky, trabajó la Pseudorabia, como enfermedad por primera vez en Hungría, diagnosticándola a través de la infección de conejos con el virus.

Pero existen pruebas que esta enfermedad ha existido desde muchos años atrás en EE.UU. (Conocida como "comezón loca"). En Ohio, por lo menos desde 1813. (3).

El Laboratorio de Patología Animal de Tlaquepa que, Jalisco, diagnosticó por primera vez, un brote de Pseudorabia en cerdos, en 1973; se reportaron además, brotes en la población porcina en los años de 1974, 1975, 1976. (7).

En 1977 el Departamento de Sanidad Porcina, ha reportado varios brotes de Pseudorabia en: Michoacán, Estado de México, Jalisco, Puebla, Guanajuato; todos los reportes se han presentado en población porcina, con una mortalidad de 80 a 90 % en lechones. (1).

El diagnóstico de los brotes se hizo en base de la inyección subcutánea a conejos, con cerebro obtenido de lechón muerto de Pseudorabia y también por medio de exámen serológico del suero porcino, el cual revela anticuerpos neutralizantes del virus de Pseudorabia.

Desde que se reportó el primer brote en México, de Pseudorabia, en 1973, se ha incrementado año con año esta enfermedad, causando graves pérdidas económicas entre los poricultores del país. La necesidad de la utilización o implementación de pruebas rápidas y simples, en su proceso para la detección de cerdos expuestos y portadores del virus de la Pseudorabia; es -

una necesidad importante, desde el punto de vista zoológico sanitario y económico, ya que permitirá evitar el incremento de apizootias de la enfermedad de Aujeszky, entre las pjaras.

El presente trabajo tendrá como objetivo la comparación de dos pruebas para el diagnóstico de la enfermedad de Aujeszky (Pseudorabia), la intradermo-reacción y sueroneutralización, mismas que tienen como fundamento la reacción antígeno-anticuerpo. Así como también la evaluación entre ambas pruebas a partir de conejos inmunizados con el agente etiológico de la enfermedad.

**CAPITULO I**

**MATERIAL Y METODO.**



**OFICINA DE  
DIFUSION CIENTIFICA**

**BIOLÓGICOS:**

1 Encéfalo de cerdo. (con virus de Pseudorabia)

10 conejos (3 semanas de edad).

80 ratones lactantes.

1 Cuye.

**CRISTALERIA:**

80 tubos de ensaye.

1 embudo.

3 matraces.

3 morteros.

8 pipetas (1 cc.)

**REACTIVOS:**

Formol al 37.7 %

Caldo nutritivo.

Solución salina fisiológica estéril.

**VARIOS:**

10 jeringas (5 cc.- 1 cc.)

20 agujas hipodérmicas ( No. 23 - 27).

1 tijeras mayo rectas.

1 navaja de afeitar.

1 bisturf No. 4.

15 jaulas de 25 x 40.

4 gradillas.

1 mechero bwnsen.

1 bernier.

Papel filtro No. 5.

#### RECOLECCION DEL VIRUS DE PSEUDORABIA:

El virus de Pseudorabia se obtuvo de un encéfalo de cerdo, procedente de un brote de Aujeszky, ocurrido en San Francisco del Rincón, Guanajuato, en junio de 1977.

#### PREPARACION DEL INOCULO:

Se preparó una suspensión del encéfalo con virus de Aujeszky, al 10 %. En un mortero hacemos la molienda con 10 gr. del encéfalo. La molienda se coloca en un matraz, con 100 cc. de caldo nutritivo. Inoculamos 2 cc. via subcutánea a un conejo, con la suspensión para producir el cuadro de la enfermedad. Se estuvo observando, presentando síntomas de prurito a -

las 49 horas y muerte a las 72 horas. Preparado y comprobado el inóculo, se pone a congelación para su conservación.

#### PREPARACION DE LA VACUNA.

La vacuna se preparó según la técnica de Auto-vacunas.

#### PREPARACION DEL ANTIGENO:

El antígeno se preparó con una suspensión al 10 % de encéfalo, con virus de Aujeszky. Se hace una molienda con 10 gr. de encéfalo en un mortero, la molienda se coloca en un matraz, se agregan 100 cc. de caldo nutritivo y 5 cc. de formol, al 37.7 %. Se filtra el antígeno con papel filtro No. 5, a que no queda ningún sedimento. Procedemos a efectuar la prueba de esterilidad y de irritabilidad. La primera prueba (esterilidad) se hace para estar seguros que no haya gérmenes; esto se hace sembrando con una asa bacteriológica, el antígeno en un medio de cultivo sólido. Colocamos el medio en una estufa bacteriológica y a las 24 horas de incubación se observa que no hubo crecimiento bacteriano.

La segunda prueba (irritabilidad) consiste en inyectar intramuscularmente 2 cc. del antígeno y se observó que no hubo ningún tipo de irritación. Hechas las pruebas procedemos a congelar el antígeno para conservarlo.

#### DISEÑO DEL EXPERIMENTO:

#### METODO.

Se seleccionaron dos lotes de conejos de 3 semanas de edad, cada lote formado de cuatro conejos.

LOTE "A". A este lote de conejos se les aplicó 5 cc. via subcutánea de vacuna de pseudorabia.

LOTE "B". Se les hace doble inmunización a estos conejos. La primera inmunización se hace al mismo tiempo que se aplicó al Lote "A" (5 cc. via subcutánea), la segunda inmunización se efectuó a los cinco días, aplicando 5 cc. via subcutánea.

Estas inmunizaciones que se hicieron a los dos lotes de conejos, son con el fin de producir anticuerpos contra el virus de Aujeszky, a las 96 horas de ha

ber aplicado la última vacuna, se procede a efectuarla Prueba Intradermoreacción a los lotes de conejos.

La Prueba Intradermoreacción se efectuó de la siguiente manera: Se rasura una zona del cuerpo (cos-tado), a cada uno de los conejos del lote A, B y a un conejo "Testigo". Se mide el grosor de la piel (zo-na rasurada), con un bernier a cada uno de los cone-jos y se les aplica una décima de antígeno, via intradérmica. Se hacen lecturas a los 45 minutos, a las 4-horas, a las 24 horas, a las 48 y 72 horas, midiendo el grosor de la piel con el bernier.

A las 72 horas se obtiene el suero de los 9 co-nejos (Lote A, B y Testigo), para la prueba Sueroneu-tralización. Se mezclan los sueros por las siguientes razones: Escasez de ratones, el alto precio de los ra-tones. Además las mezclas de los sueros se hicieron -por separado, es decir, los sueros del lote A se mez-claron juntos y los sueros del lote B se mezclaron a-parte.

Para efectuar la prueba sueroneutralización se utilizaron los sueros mezclados del lote A y los sue-ros mezclados del lote B y el suero del testigo. Los-

cuales titulamos de la siguiente manera:

En 10 tubos de ensaye, con una pipeta, ponemos .9 cc. de solución fisiológica estéril; en el primer tubo se pone .1 cc. de suero a titular; se homogeniza y se hacen las dilusiones en los 9 tubos restantes, - de  $10^{-1}$  a  $10^{-10}$ . Hechas las dilusiones, agregamos .1 cc. del inóculo, dejamos las dilusiones en reposo por 60 minutos al medio ambiente (para que haya unión an-tígeno-anticuerpo).

Pasado este tiempo, se hacen las inoculaciones a ratones lactantes, con aguja No. 27 x 6; aplicamos una centésima, via intracraneal; utilizamos dos ratones por dilusión.

**CAPITULO II**

**RESULTADOS.**

## CUADRO No. 1

## RESULTADOS DE LA PRUEBA INTRADERMOREACCION.

LOTE:	CONEJO:	45'	4 Hrs.	24 Hrs.	48 Hrs.	72 H.
A	I	+		*	*	'
	II	+		*	*	'
	III	-	+	*	*	'
	IV	-	+	*	*	'
B	I	-	+	*	*	'
	II	+		*	*	'
	III	-	-	**	*	'
	IV	+		*	*	'
TESTIGO.		-	-	-	-	-

+ Positivo: Presentando reacción intradérmica, con aumento del grosor normal de la piel, en el sitio en que se aplicó el antígeno.

\* Positivo: A las 24 y 48 horas, se observó mayor aumento del grosor de la piel.

' : Disminuyendo el grosor de la piel a las 72 horas.

- Negativo: A la prueba intradermoreacción.

#### RESULTADOS DE LA PRUEBA INTRADERMOREACCION.

En el lote B, conejos de doble inmunización, - se observó que el aumento del grosor de la piel fue - más marcado, que en el lote A, conejos de una sola inmunización. Ambos lotes reaccionaron al aplicar el antígeno entre los 45' y 4 horas, cuya mayor lectura - fue entre las 24 y 48 horas, disminuyendo a las 72.

## CUADRO No. 2.

## RESULTADOS DE LA PRUEBA SUERONEUTRALIZACION.

DILUSION.	H O R A S :					
	24	48	72	96	120	144
10 <sup>-1</sup>			"T"			
10 <sup>-2</sup>		"T"				
10 <sup>-3</sup>		"T"		"A"		
10 <sup>-4</sup>			"T"	"A"		
10 <sup>-5</sup>			T-A			
10 <sup>-6</sup>			T-A		"B"	
10 <sup>-7</sup>			T-A		"B"	
10 <sup>-8</sup>			T-A			"B"
10 <sup>-9</sup>			T-A		"B"	
10 <sup>-10</sup>			T-A		"B"	

"T": Suero "Testigo"; presencia de muerte de los ratones en las distintas diluciones.

"A": Sueros lote "A". (Una inmunización) presencia de muerte de los ratones.

"B": Sueros lote "B". (Doble inmunización), -

presencia de muerte de los ratones.

Los ratones que no se murieron a las 144 horas se tuvieron en observación durante un mes, después se sacrificaron.

#### RESULTADOS DE LA PRUEBA SUERONEUTRALIZACION.

Sueros Lote A. (Conejos de una sola inmunización). El título de anticuerpos neutralizantes fue más bajo que en los sueros del lote B, protegiendo en las diluciones  $10^{-1}$  y  $10^{-2}$ , quedando vivos los ratones; en las diluciones  $10^{-3}$  y  $10^{-4}$ , presentaron síntomas a las 72 horas y muerte a las 96 horas; en las diluciones  $10^{-5}$  a  $10^{-10}$ , presentaron síntomas a las 48 horas y muerte a las 72 horas.

Sueros lote B. (Conejos de doble inmunización), se observó que hubo mayor protección en las diluciones  $10^{-1}$  a  $10^{-5}$ , los ratones quedaron vivos en las diluciones  $10^{-6}$  a  $10^{-10}$ , presentaron síntomas a las 96 horas y muerte a las 120 horas, debido a que el nivel de anticuerpos neutralizantes fue muy elevado.

Suero "Testigo", todos los ratones se murieron-

entre las 48 y 96 horas, porque no hubo anticuerpos -  
en el suero que pudieran neutralizar al virus.



OFICINA DE  
DIFUSION CIENTIFICA

CAPITULO III

D I S C U S I O N

La evaluación entre las pruebas intradermoreacción y sueroneutralización, fue en forma cualitativa; debido a que la prueba intradermoreacción es una prueba cualitativa, porque al efectuar la lectura, nos va a dar un aumento del grosor de la piel, lo que nos indica que es positiva; y la sueroneutralización es una prueba cuantitativa, porque se puede hacer titulaciones de anticuerpos presentes en suero.

Se demostró que existía anticuerpos en los animales expuestos a la vacuna; al realizar ambas pruebas, se encontraron presencia de anticuerpos en forma cualitativa y cuantitativa.

Los sueros del lote A, al efectuar la prueba de sueroneutralización, se observó que sí hubo protección, principalmente en las diluciones  $10^{-1}$  y  $10^{-2}$ , - debido a que el nivel de anticuerpos fue alto; por lo tanto, los ratones no murieron. En las diluciones  $10^{-3}$  y  $10^{-4}$ , presentaron síntomas nerviosos y prurito en cabeza a las 72 horas y muerte a las 96 horas; en las diluciones  $10^{-5}$  a la  $10^{-10}$ , la protección fue mínima, presentando síntomas a las 48 horas y muerte a las 72 horas.

Los sueros del lote B, conejos de doble inmunización, la protección fue mayor, ya que el título de anticuerpos neutralizadores fue muy elevado. En las diluciones  $10^{-1}$  a  $10^{-5}$ , los ratones quedaron vivos, sin presentar ningún signo de enfermedad; en las diluciones  $10^{-6}$  a  $10^{-10}$ , los síntomas se presentaron a las 96 horas y muerte a las 120 horas.

El Dr. W.C. Stewart y Colaboradores, dicen que la prueba sueroneutralización, está autorizada y es la mejor, pero tiene limitaciones en un programa de certificación de una piara. (9)

El Dr. Paul Smith dice que la prueba intradérmica reacción es más fácil de efectuar, barata y conveniente en el campo. (9).

P.C. Smith y Colaborador, efectuaron una prueba intradérmica para la detección del virus de la pseudorabia en cerdos, obteniendo resultados similares a los obtenidos al efectuar la prueba intradérmica reacción en los conejos. (5).

El Dr. Donald E. Guten Kunst y colaboradores, están trabajando con una nueva y mejor prueba, para

la detección de la enfermedad de pseudorabia. Esta - prueba se llama microinmunodifusión (MIDT), detecta - el virus de la pseudorabia en suero sanguíneo, dando- resultados entre 24 y 48 horas. Esta prueba se efec - túa en agar gel, produciendo microdifusión. (2).



OFICINA DE  
DIFUSION CIENTIFICA

CAPITULO IV

C O N C L U S I O N E S

PRIMERA. Se encontró una correlación positiva entre - las pruebas de sueroneutralización e intra - dermoreacción.

SEGUNDA. En animales con doble inmunización se observo que el título de anticuerpos fue muy elevado, dando mayor protección en las dilusiones  $10^{-1}$  a  $10^{-5}$ .

TERCERA. Los animales con una inmunización, el título de anticuerpos fue más bajo, dando mayor protección en las dilusiones  $10^{-1}$  y  $10^{-2}$ .

CUARTA. En los resultados obtenidos no se observó ninguna reacción cruzada o shock anafiláctico - por proteínas diferentes, ya que en la prueba intradérmica, la cual se hizo en conejos, se observó que los que se inmunizaron hubo - reacción intradérmica muy clara al aplicar - el antígeno, en cambio en el "testigo", que no se inmunizó, su respuesta fue negativa al aplicar el antígeno.

**CAPITULO V**

**SUMARIO**

Se utilizó un encéfalo de cerdo enfermo de pseudorabia, dos lotes de conejos (de 4 c/u), un conejo testigo y 80 ratones lactantes.

Los dos lotes de conejos se inmunizaron: Lote A, una inmunización; lote B doble inmunización.

Después se procedió a efectuar la prueba intradermoreacción, aplicando el antígeno a los conejos lote A, B y Testigo.

Se obtuvo el suero de los dos lotes y testigo para efectuar la prueba sueroneutralización en los ratones.

Los resultados obtenidos en ambas pruebas fueron positivos: en el lote B se observó que la reacción intradérmica fue más marcada que en el lote A y negativa en el "Testigo". Y mayor fue el nivel de anticuerpos neutralizantes en los sueros lote B, en relación con el lote "A".

**CAPITULO VI**

**REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.**

- (1). DIRECCION GENERAL DE SANIDAD ANIMAL.  
Departamento de Sanidad Porcina.
- (2). Dr. Donald E. Guten Kunst.: "UNA MEJOR PRUE-  
BA PARA LA PSEUDORABIA EN SUINO".  
Hampshire Herdsman. Septiembre. 1977.
- (3). Howard W. Dunne.: "ENFERMEDADES DEL CERDO".  
Primera Edición. Editorial Uteha. P.292-303
- (4). Hutyra-Marek- Mannin Ger- Mocsy.: "PATOLOGIA  
Y TERAPEUTICA DE LOS ANIMALES DOMESTICOS".  
Tomo I. Tercera Edición. Editorial Labor.  
Págs. 245-253.
- (5). P.C. Smith and W.L. Mengeling.: "A SKIN TEST  
FOR PSEUDORABIES VIRUS INFECTION IN SWINE.  
Canadian Journal of Comparative Medice.  
Vol. 41 - N-4. Pág. 364-368.
- (6). I. A. Merchant.: "BACTERIOLOGIA Y VIROLOGIA-  
VETERINARIA. Editorial Acribia. Pág. 620.
- (7). LABORATORIO DE PATOLOGIA ANIMAL. TLAQUEPAQUE.  
JAL. Memorias de 1973-1974-1975-1976.

- (8). MEMORIAS.: I SIMPOSIUM INTERNACIONAL DE LABORATORIOS DE DIAGNOSTICO. TOMO II. M.V.Z. M.- A. PABLO CORREA G.: "EVALUACION EN MEXICO DE LA PRUEBA DE INTRADERMOREACCION PARA FATOS - DE BOVINOS, PREVIAMENTE INFECTADOS CON VIRUS DE LA IDR" Enero 15-22-1977.
- (9). NEAL BLACK. P.V. CANCELS LIVE BANOW SHOW AT-AUSTIN. NATIONAL HOG FARMER. Mayo 77. P.3-6.
- (10). NEAL BLACK. INDUSTRY DEMANDS PRV VACCINE. NATIONAL HOG FARMER. Mayo 77. Pág. 3.
- (11). P.C. SMITH.: "REACCION HIPERSENSITIVA DEL TIPO-CUTANEO RETARDADO EN CERDOS INFECTADOS CON - EL VIRUS DE PSEUDORABIA".  
Proceedings Internacional Pig Veterinary Society (I.P.U.S.). Congress 1976. Pág. 6-12.
- (12). William Rojas M. INMUNOLOGIA. 3ra. Edición. Editorial Colina. Pág. 98-100.
- (13). W.J. Herbert.: "INMUNOLOGIA VETERINARIA". Editorial Acribia. Pág. 116.