

## Caracterización de aislamientos de campo de *Haemophilus parasuis* en cerdos enfermos mediante PCR de serotipado

Fuente: [https://www.3tres3.com/articulos/caracterizacion-de-aislamientos-de-campo-de-h-parasuis-mediante-pcr\\_40803/](https://www.3tres3.com/articulos/caracterizacion-de-aislamientos-de-campo-de-h-parasuis-mediante-pcr_40803/)

Más del 50% de todas las muestras sistémicas analizadas por HPS PCR en el Laboratorio de Diagnóstico Veterinario de la Universidad Estatal de Iowa son positivas.

*Haemophilus parasuis* (HPS) continúa desafiando a los productores de cerdos causando poliserositis fibrinosa, meningitis y artritis en sus animales, un síndrome comúnmente conocido como Enfermedad de Glässer. Se considera una de las infecciones bacterianas más prevalentes durante la etapa de destete, y el hecho de medicar regularmente para controlarla está empezando a ser una preocupación. Hay que tener en cuenta que más del 50% de todas las muestras sistémicas analizadas para HPS PCR en el Laboratorio de Diagnóstico Veterinario de la Universidad Estatal de Iowa (ISU VDL) son positivas (figura 1).

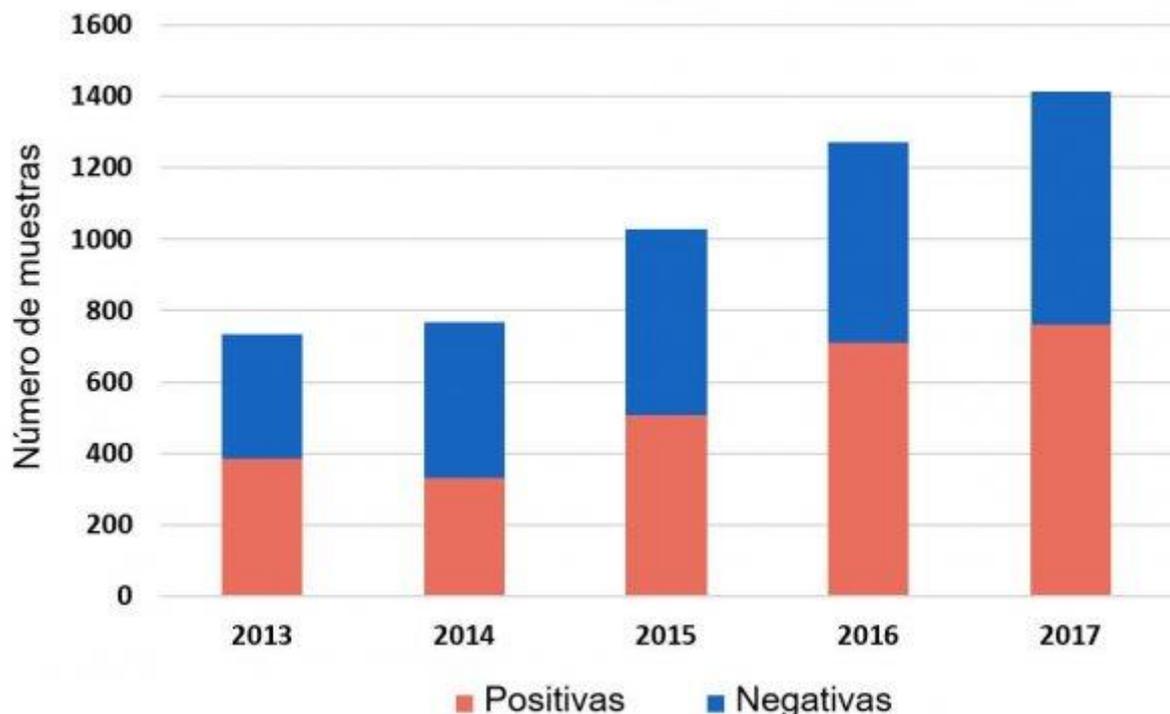


Figura 1: Detección de *H. parasuis* en muestras sistémicas por PCR de casos enviados entre 2013-2017. ISU base de datos 2018.

Las vacunas que contienen células enteras muertas han demostrado, en general, que sólo protegen contra cepas del mismo serotipo. El HPS es un patógeno muy diverso, y se han descrito 15 serotipos mediante la prueba de precipitación en gel de agar (AGPT) y la hemaglutinación indirecta (IHA) (Turni y Balckall, 2005). Estos métodos de serotipado se basan en reacciones entre antígenos de superficie, como los polisacáridos capsulares, y los antisueros. A pesar de que el serotipado tradicional es el método más comúnmente utilizado para caracterizar HPS, hay un número considerable de aislamientos que no puede ser serotipado.

El progreso en los métodos moleculares ha llevado a la creación de una PCR multiplex de serotipado (Howell et al., 2015; Lacouture et al., 2017). Esta PCR utiliza unos cebadores específicos basados en variaciones de los loci de la cápsula, específicas para cada serotipo, capaces de discriminar 14 de los 15 serotipos de HPS. Ningún gen capsular de polisacárido permitió diferenciar entre los serotipos 5 y 12. En 2017, Jia et al. propusieron un nuevo esquema de PCR, que contenía cebadores que diferenciaban el serotipo 5 del 12. Sin embargo, el cebador del serotipo 12 se basa en un gen hipotético, por lo que son necesarias más investigaciones.

La comparación entre la PCR de serotipificación y la IHA mostró que ambas técnicas tuvieron los mismos resultados para el 88% de los aislamientos de HPS analizados. Las diferencias observadas podrían explicarse por complicaciones con el método IHA. La diferencia más notable es que el número de cepas que no se pueden tipificar (cepas que no pueden ser serotipadas por el uso de antisueros) se redujo significativamente (Howell et al., 2015; Lacouture et al., 2017). La PCR de serotipificación se ha optimizado y ahora se realiza en el ISU VDL.

Cuando se analizó un grupo de 216 cepas de HPS aisladas de muestras porcinas enviadas a ISU VDL, solo tres aislamientos (0,5%) no fueron tipificables mediante PCR de serotipado, lo que confirma una reducción importante en comparación con los métodos convencionales (15-41%). Los serotipos 4 (24%), 7 (26,7%), 1 (14,8%), 2 (13,4%), 5/12 (13%) y 13 (10,2%) fueron los más identificados, seguidos por los serotipos 14 (5,6 %) y 6 (0,9%) (figura 2). Estos serotipos también se han identificado comúnmente en campo en los Estados Unidos, Canadá, Europa y China.

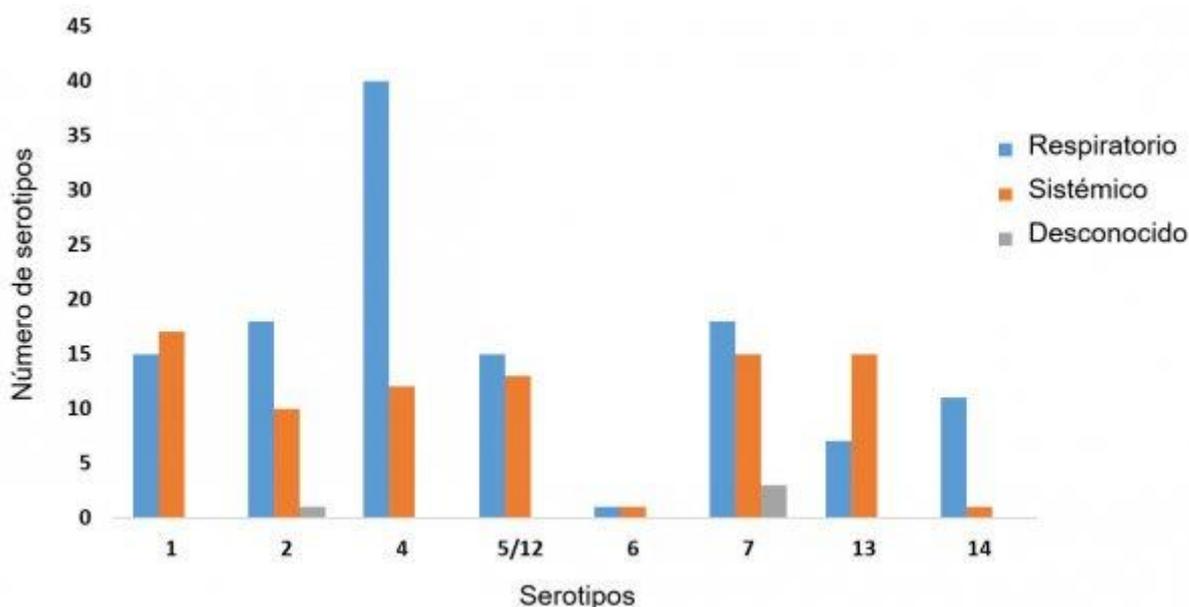


Figura 2: Distribución de serotipos de *H. parasuis* entre aislados respiratorios y sistémicos muestreados por PCR de serotipado.

La mayoría de los aislamientos de HPS de esta colección se obtuvieron de cerdos enfermos afectados por neumonía y poliserositis. El sitio de aislamiento de HPS fue principalmente pulmonar (figura 2), seguido de sitios sistémicos como pericardio (21%), pleura (7%), articulación (5%), meninge (3,7%), peritoneo (1,4%) y fibrina (0,5%). Este hecho sugiere fuertemente que esos

aislamientos eran virulentos pues fueron capaces de resistir al suero y a la fagocitosis, ambos reconocidos como mecanismos de virulencia en HPS (Cerde-Cuellar y Aragón, 2008; Olvera et al., 2009). Incluso los serotipos 6 y 7, previamente clasificados como no virulentos por el esquema Kielstein-Rapp-Gabrielson (Kielstein y Rapp-Gabrielson, 1992), se aislaron de sitios sistémicos. El HPS se puede aislar de los pulmones de cerdos sanos, y las coinfecciones son comunes. Por lo tanto, debe considerarse la presencia de otras cepas potencialmente virulentas que infectan al mismo animal.

Se analizaron por separado ciento veintitrés aislamientos de HPS pertenecientes a seis sistemas porcinos diferentes en los Estados Unidos para evaluar la frecuencia de los serotipos dentro de los sistemas de producción. Se observó una alta variabilidad de serotipos en esos sistemas, particularmente porque cada uno está compuesto de varias granjas diferentes. Sin embargo, en la mayoría de los casos, solo un serotipo prevaleció dentro de un flujo. También, encontramos que los serotipos 4 (23,5%, 29/123) y 7 (22,7%, 28/123) estaban presentes en todos los sistemas (figura 3).

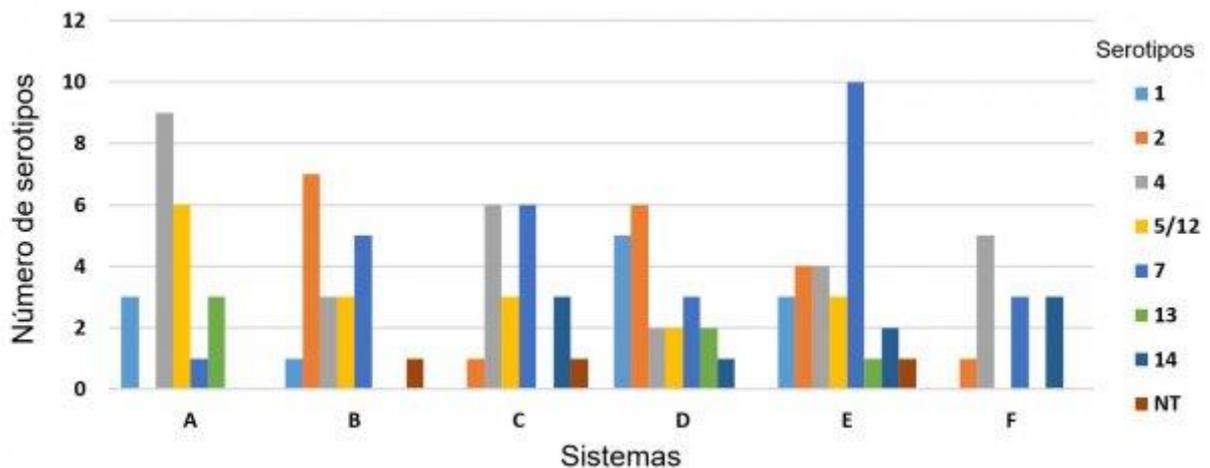


Figura 3: Distribución de serotipos de *H. parasuis* en seis sistemas porcinos diferentes. El control de HPS requiere un enfoque multifacético. El primer paso es caracterizar los aislamientos encontrados en cerdos enfermos. El monitoreo de la presencia de serotipos de HPS en granjas es esencial para el control de la enfermedad. La PCR de serotipificación y VtaA PCR pueden ser herramientas útiles, en particular, para la selección de serotipos virulentos para ser incluidos en vacunas autógenas, para mejorar el manejo del flujo de cerdos al mezclar diferentes orígenes con el mismo serotipo, y para prevenir la introducción de cerdos con cepas de HPS potencialmente virulentas en granjas naïve.