

# EL DIAGNÓSTICO MOLECULAR Y PRRS: APLICACIONES PRÁCTICAS

\*Lara, J.<sup>1</sup>, Cortes, R.<sup>1</sup>, Castro, F.<sup>1</sup>, Escamilla, J.<sup>1</sup>, Quezada, F.<sup>1</sup>, Aranda, M.<sup>2</sup>,  
Lozano, B.<sup>1</sup>, Sarfati, D.<sup>1</sup>, Soto, E.<sup>1</sup> y Antillón, A.<sup>1</sup>

Laboratorio Avi-Mex, S. A. de C. V., 1 Diagnósticos Clínicos Veterinarios (DCV). [lara@avimex.com.mx](mailto:lara@avimex.com.mx)

El diagnóstico en la Medicina Veterinaria ha tomado un nuevo y amplio significado desde los años 90 y esto se ha reflejado en la expansión de las investigaciones clínicas para el correcto diagnóstico de las enfermedades, incluyendo la detección de las infecciones. Esto ha generado una nueva perspectiva de cómo los veterinarios vemos a las pruebas de laboratorio y como son interpretados los resultados de estas. No solo deben considerarse la especificidad y la sensibilidad de la prueba, sino también el valor predictivo de la misma, el cual se relaciona directamente a la utilidad clínica del resultado. El diagnóstico final de las enfermedades infecciosas es una combinación de la historia clínica, signos clínicos y análisis *antemortem/postmortem* de las muestras. El diagnóstico de las enfermedades ha utilizado de manera cotidiana pruebas de laboratorio para una detección temprana de la enfermedad y así poder llevar a cabo estrategias para la terapia o prevención de una manera individual y/o establecer manejos correctivos de manera poblacional como la segregación, eliminación de retrasados, vacunaciones, medicaciones, etc. El diagnóstico de cualquier enfermedad, requiere de una estrecha cooperación entre el Médico Veterinario de la granja y el Profesional del laboratorio de diagnóstico.

Para que nuestro diagnóstico final pueda ser confiable se requieren de los siguientes puntos o criterios:

1. Diagnóstico clínico: que los animales en la granja manifiesten los signos clínicos característicos de la enfermedad y que tengan una historia clínica compatible con la misma.
2. Diagnóstico anatomopatológico: que se encuentren lesiones características en los animales enfermos.
3. Diagnóstico de laboratorio: que el agente etiológico (causal) sea recuperado o identificado a partir de muestras o animales afectados por la enfermedad.

Muchas enfermedades pueden llegar a ser diagnosticadas utilizando los signos clínicos, las lesiones observadas en los animales y la presencia de anticuerpos específicos en la sangre de los animales afectados. Sin embargo, el diagnóstico en muchos casos es realizado sin tener estos tres criterios en conjunto.

El diagnóstico en muchas ocasiones es mas arte que ciencia, pero cuando lo realizamos con bases científicas podemos tener mucha mas confianza en nuestros resultados.

Todo diagnóstico final tiene que estar apoyado por resultados obtenidos en diferentes fases del proceso, como son:

1. La historia clínica.
2. Los hallazgos clínicos y patológicos en la granja o fase afectada.
3. El diagnóstico de laboratorio.
4. La experiencia y criterio de los involucrados en el proceso del diagnóstico.

## Historia Clínica

En la historia clínica siempre es importante realizar y tomar en cuenta las siguientes preguntas básicas:

- a) ¿Cuál es la edad de los animales afectados?
- b) ¿Cuál es la historia de la granja referente a problemas sanitarios?
- c) ¿Cuándo fue reportado el primer evento sanitario?
- d) ¿Cuál es el porcentaje de morbilidad?
- e) ¿Cuál es el porcentaje de mortalidad?
- f) ¿Qué otros signos clínicos se observan?
- g) ¿Ha observado que los animales tengan fiebre? ¿La ha valorado?
- h) ¿Se han realizado necropsias de los animales muertos o de los sacrificados? ¿Qué lesiones se han encontrado?
- i) ¿Qué tratamientos se han proporcionado para solucionar el problema?
- j) ¿Qué programa de vacunación se tiene establecido en la granja?

Lesiones macroscópicas: Es necesario realizar necropsias en animales recientemente fallecidos o en animales sacrificados para el diagnóstico. Es importante tomar en cuenta las lesiones sugestivas de la enfermedad o enfermedades que pudieran estar involucradas en el proceso actual. Las lesiones macroscópicas en algunas ocasiones, pueden ser subjetivas y no específicas de la enfermedad, o en ocasiones no estar presentes en todos los animales que sufren el proceso infeccioso, por ello la importancia de hacer una revisión exhaustiva tanto de los que se encuentren francamente enfermos, como de aquellos que aparentemente están sanos, pero en contacto con los anteriores.

Lesiones microscópicas: Las lesiones microscópicas son más características de la enfermedad que se encuentra afectando nuestra producción pero aún así, en algunas ocasiones no son definitivas. Dependiendo de la enfermedad que pensemos que esta afectando a los animales, será el tipo de muestras que tomemos para realizar la histopatología.

El Diagnóstico de laboratorio: En cuanto a diagnóstico de laboratorio existen dos grandes rubros para ayudarnos en el diagnóstico final del problema.

1. Pruebas serológicas.
2. Detección del agente causal.

Pruebas serológicas: Es importante indicar algunos puntos necesarios de tomar en cuenta para cualquier diagnóstico serológico. Ninguna prueba serológica es 100% específica y sensible. Todas las pruebas tienen ventajas y desventajas en sus procesos y resultados, pero estos pueden minimizarse si se llevan a cabo algunos sencillos pasos.

1. Otorgue al laboratorio de diagnóstico de su confianza una historia clínica completa e informe el objetivo de las pruebas solicitadas. En ciertas ocasiones, el tener una historia clínica completa, genera que el personal del laboratorio pueda proporcionarle apoyo.
2. Antes de tomar las muestras para su perfil serológico, planee una estrategia o un plan de acción: ¿Qué hacer si los resultados son positivos? ¿Qué hacer si son negativos?. Esto no solo ayudará a determinar sus acciones posteriores, si no que dará un mayor valor al proceso de diagnóstico. En ciertas ocasiones, invertimos mucho tiempo y dinero en la toma de muestras y en la realización del perfil serológico y al llegar los resultados no tenemos la certeza de cuáles serán nuestros siguientes pasos en el proceso del diagnóstico y solución del problema.

La interpretación de los resultados es uno de los puntos fundamentales en el proceso de diagnóstico serológico. Por ello, es importante conocer, aunque sea de manera básica los fundamentos de cada una de las pruebas serológicas que solicitamos frecuentemente, así como, qué tipo de anticuerpo detecta cada una de ellas y qué significa ello en el proceso de enfermedad. Recordemos que la presencia de anticuerpos raramente indica que el animal está protegido, pero en algunas ocasiones así se interpreta. Es necesario tomar en cuenta el programa de vacunación y la presencia de anticuerpos pasivos, cuando realicemos la interpretación de los resultados.

El encontrar un resultado negativo en una sola prueba como en el caso de ELISA, puede tener diferentes interpretaciones:

- Que el animal no fue infectado con la enfermedad en cuestión.
- Que el animal fue infectado recientemente y aún no seroconvierte.
- Que el animal fue infectado pero ya es seronegativo.
- Que la prueba que utilizamos dio como negativa debido a una baja sensibilidad o a un error del laboratorio emisor.

Con esto podemos observar la debilidad de realizar un solo muestreo; por ello es necesario siempre tomar muestreos pareados, al menos con 2 a 3 semanas de separación entre ellos. Esto nos dará más seguridad y confianza en nuestro proceso. La serología es una herramienta esencial en los programas de diagnóstico y control de cualquier enfermedad, pero también es cierto que para aumentar nuestras expectativas de éxito en el proceso, necesitamos los resultados de microbiología, histopatología, detección del antígeno y de la historia clínica. Como todos los puntos anteriores, el tomar una muestra representativa es de vital importancia para asegurar que los resultados que obtengamos son realmente confiables y representativos del problema que se esta sufriendo en la explotación. Un tamaño de muestra adecuado depende de la prevalencia que esperamos tener de la enfermedad, el tamaño de la población y el nivel de confianza que deseamos obtener de nuestras pruebas.

Detección del agente causal: La detección del agente etiológico puede realizarse por medio de diferentes formas como lo son las siguientes:

- Histopatología.
- Inmunofluorescencia directa.
- Inmunohistoquímica.
- Aislamiento viral o bacteriano.

La recuperación de algunos agentes etiológicos de los tejidos o del suero de animales sospechosos, conlleva una técnica de laboratorio complicada y tardada, así como costosa. Muchos agentes causales son fácilmente inactivados por temperaturas superiores a la de la congelación, así como por la autólisis generada en los órganos y tejidos de los animales afectados y que murieron por esa causa. Por ello, se recomienda tomar las muestras (sangre) de animales que estén sufriendo el proceso de manera activa o en su caso, sacrificarlos para poder tomar de la mejor manera posible las muestras necesarias (tejidos y órganos) para intentar el aislamiento. La detección de una infección durante las fases subclínicas se ha vuelto muy importante, ya que uno debe de considerar las consecuencias de las infecciones a largo plazo, las infecciones persistentes y

aquellas que han prolongado sus tiempos de incubación y sobre todo la transmisión no aparente a los animales susceptibles dentro de la población.

Con la necesidad de detectar las infecciones de manera más temprana en las fases subclínicas, se ha dado una expansión muy marcada en la disponibilidad de pruebas que pueden detectar a los microorganismos involucrados en cantidades verdaderamente pequeñas. Este incremento en la sensibilidad de las pruebas se ha dado en los últimos años por la prueba conocida como Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés). Como una herramienta en el diagnóstico molecular, el PCR puede ayudarnos no solamente en la detección temprana de los microorganismos, sino también, cuando es utilizado de manera correcta para indicarnos el tipo de microorganismo y así establecer un análisis epidemiológico.

Casi cualquier muestra puede contener patógenos (virus, bacterias o parásitos) y ser analizada. Se han utilizado la sangre, la orina, las heces, los exudados, las secreciones nasales, los tejidos e incluso hisopos/raspados/improntas ambientales con éxito. El análisis de PCR es tan sensible que incluso en algunas técnicas una sola partícula del virus puede ser detectada. Este análisis se puede hacer en un corto tiempo, el cual puede ir de unos pocos días a unas cuantas horas y tiene usos para el diagnóstico de los patógenos en animales vivos y en muestras tomadas adecuadamente durante la necropsia.

En general, las muestras apropiadas para una evaluación microbiológica convencional (por ejemplo detección de virus) también son adecuadas para las pruebas de diagnóstico molecular. Esto incluye secreciones, excreciones, heces, sangre, suero, biopsias de animales vivos, tejidos, órganos y lavados (pulmonares por ejemplo) de animales a los que se les ha realizado la necropsia.

El objetivo principal del diagnóstico molecular en sus diversas fases es el de ofrecer técnicas y resultados accesibles, de fácil comprensión, rápidos y confiables, para poder realizar una adecuada detección y prevención de las enfermedades que permitan promover la salud de las diferentes especies animales y asegurar así productos más sanos para el consumo humano.

A continuación daremos una breve explicación de las pruebas que actualmente se aplican en México para el diagnóstico molecular enfocándonos principalmente en PRRS.

Pruebas moleculares: Debido a los avances en la tecnología y la aplicación de los más nuevos procesos de diagnóstico en veterinaria, podemos tener en la actualidad diversas técnicas moleculares.

### **Reacción en Cadena de la Polimerasa**

Esta nueva técnica de diagnóstico molecular, cumple en gran medida con los parámetros ideales de las pruebas diagnósticas: rapidez, especificidad y sensibilidad y la PCR es catalogada dentro de la nueva era del diagnóstico, debido a que su sensibilidad es tan alta que puede detectar hasta  $10^0$  TCDI<sub>50</sub> (Dosis Infectantes en Cultivo de Tejidos=TCDI) de organismos por muestra, es decir, en términos prácticos puede llegar a detectar el material genético de solo 10 partículas virales presentes en 1 ml de muestra y tiene una alta especificidad y rapidez.

Casi cualquier tipo de muestra puede ser utilizada para la realización de esta técnica, la cual detecta el material genético del patógeno en cuestión; estando vivo o inactivado el microorganismo, lo que nos da una elevada sensibilidad; por ello se puede utilizar sangre, suero, semen o tejidos. Recordando que entre mejor tomemos la muestra, la conservemos y la enviemos al laboratorio, más confianza y menos riesgos de posibles errores en la realización de la técnica tendremos.

Aún con todas las ventajas indicadas, es necesario comentar que dependiendo del agente que se busca o desea detectar, tipo y condición de la muestra, la sensibilidad del diagnóstico puede no ser tan grande como lo deseáramos y dependiendo de las circunstancias, pruebas convencionales pueden proveernos desempeños similares. También es necesario recordar que el costo de la prueba es más elevado en comparación con otras.

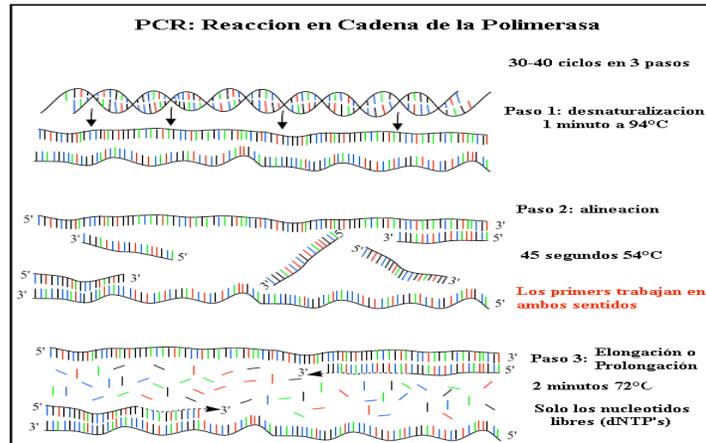
### **Proceso del PCR**

La Reacción en Cadena de la Polimerasa, es una prueba que se utiliza para amplificar una porción específica del material genético del microorganismo (ácido nucleico), conocido como secuencia blanco, la cual debemos de recordar es única y específica para cada organismo vivo. Todo esto inicia cuando se extrae el ácido nucleico específico de la muestra (suero, tejidos u órganos) y se elimina el exceso de proteínas y de sustancias inhibitorias.

El ácido desoxirribonucleico o ADN es la muestra para iniciar el PCR, por ello las bacterias y virus ADN pueden ser utilizados directamente para la prueba. En el caso del material genético conformado por ARN (como el virus de PRRS) se debe de convertir de ARN en ADN, utilizando una enzima conocida como retrotranscriptasa o transcriptasa inversa, con ello

se crea un ADNc (ácido desoxirribonucleico complementario), para poder utilizar así una secuencia blanco adecuada para la prueba.

### El PCR se divide en tres etapas básicas:

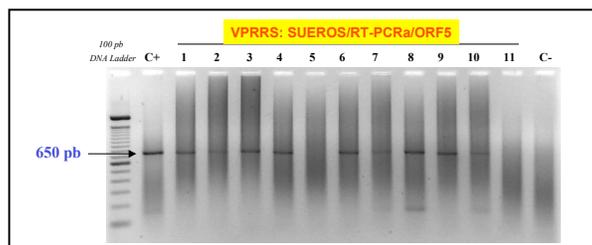


1. Desnaturalización: esta se produce cuando el ADN es calentado a 95°C, lo que causa que se de una separación de la doble hélice del ADN, creando dos bandas sencillas de ADN.
2. Alineación: La temperatura se reduce alrededor de los 50°C; permitiendo que los iniciadores o primers diseñados, que son secuencias del material genético blanco, diseñadas para acoplarse, se unan a una región específica del ácido nucleico de banda sencilla que queremos identificar (esta unión es la que da una alta especificidad a la prueba). Normalmente tienen 20 bases o nucleótidos de longitud.
3. Elongación o prolongación: En esta fase la secuencia blanco y los iniciadores en conjunto con nucleótidos libres (dNTP'S) y la *Taq* polimerasa son calentados a 72°C. Con ello los nucleótidos libres se acoplan a la secuencia específica que marca el iniciador y son pegados por acción de la *Taq* polimerasa, para formar así una molécula de ADN de dos bandas.

Los tres pasos anteriores corresponden a lo que se le llama un ciclo de amplificación. Estas tres fases son repetidas, una y otra vez en un termociclador, para amplificar el ADN. Después de 35 ciclos (2 a 3 horas), la banda inicial de ADN se ha amplificado exponencialmente, produciendo así  $2^{35}$  (34\*359\*738,368) moléculas idénticas (producto del PCR) del ADN original a partir de una sola molécula de ADN. Esta amplificación exponencial es la que da la sensibilidad a la prueba.

Posteriormente, para valorar el producto del PCR es necesario realizar la prueba de electroforesis en un gel de agarosa; con el objeto de realizar un acomodo por tamaño de los fragmentos de ADN amplificados en el PCR. Con una corriente eléctrica que es transmitida a través del gel de agarosa, se logra este acomodo en donde los fragmentos de menor tamaño se distribuyen más rápido que los de mayor tamaño.

En el gel de agarosa existen diferentes “carriles” de corrimiento. En forma normal se utiliza uno de estos carriles de los extremos para colocar un control o marcador de pares de bases conocido, normalmente de 0 a 600 pares de bases (bp), con incrementos de 100 bp, seguido se coloca un control positivo y negativo, ambos productos del PCR y en los carriles restantes se coloca el producto del PCR obtenido de las muestras problema. Al aplicar la corriente eléctrica los fragmentos de ADN tienden a migrar. Posteriormente el gel es teñido con bromuro de etidio (o algún colorante fluorescente) que solo se adhiere al ADN presente en la agarosa del gel. El gel es visualizado con una lámpara de luz ultravioleta y se escanea o se fotografía para dejar una evidencia física del corrimiento electroforético. Con la fotografía o imagen escaneada del gel se determina el tamaño de los fragmentos amplificados del producto del PCR, comparándolo contra el control de pares de bases y el control positivo.



Es importante indicar que existen diversos tipos de PCR, los cuales dependiendo del patógeno que estemos intentando identificar tendrán sus modificaciones y alteraciones de la técnica base, pero con una misma finalidad: Detectar material genético específico del agente causal que estamos buscando.

Algunos de los tipos de los PCR que se utilizan en la actualidad en Medicina Veterinaria son los siguientes:

**PCR:** Este tipo de prueba se utiliza de manera rutinaria en diferentes formas para detectar patógenos que tienen ADN en su material genético.

**RT-PCR:** Retrotranscriptasa/Reacción en Cadena de la polimerasa, la cual sirve para convertir inicialmente el ARN en ADN y posteriormente duplicar ese ADN en millones de copias. La razón para convertir el ARN en ADN, es debido a que el ARN es altamente sensible a las temperaturas y a un sin número de sustancias que lo desnaturalizan. Por el contrario el ADN el cual es muy estable y más sencillo de conservar y manejar. Un ejemplo de esta prueba es el RT-PCR contra el Síndrome Reproductor y Respiratorio Porcino (PRRS).

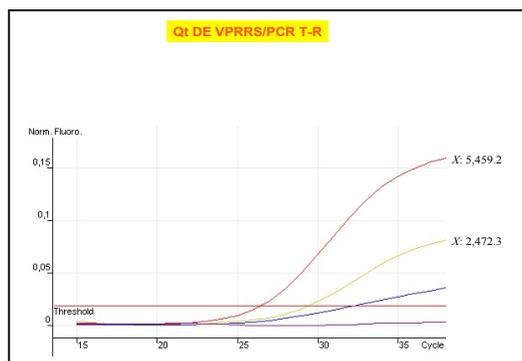
**nPCR (PCRa):** es un PCR en dos pasos, una reacción primaria de PCR y una segunda reacción anidada. La reacción primaria utiliza dos iniciadores para generar un producto el cual sirve de guía para la fase anidada. La fase anidada utiliza otro par de iniciadores específicos para una región de la guía amplificada en la primera reacción. Por ello, la fase anidada nos sirve como una confirmación de la primera fase y aumenta la especificidad de la prueba. Esta prueba nos sirve en algunos casos para detectar cepas variantes en PRRS.

**PCR múltiplex:** Es un PCR desarrollado para detectar más de una secuencia blanco en una sola reacción de PCR. Cada par de iniciadores es específico para una secuencia blanco. Esta prueba es comúnmente utilizada para la detección simultánea de múltiples agentes patógenos y para diferenciar genotipos o subtipos de los organismos a identificar.

**RepPCR:** Este PCR se basa en la duplicación de fracciones repetitivas del material genético de ciertos patógenos (normalmente bacterias) y nos puede ayudar en la genotipificación de las mismas. Esta prueba se utiliza para detectar al *Haemophilus parasuis*, entre otros.

**PCR Complex:** Esta prueba se utiliza entre otras para el diagnóstico de Diarrea Viral Bovina (DBV), tipo I y II y es similar al nPCR.

**PCRtr (PCR en tiempo real):** combina la amplificación y la detección en un solo paso. El principio básico del PCRtr cuantitativo, es la detección de una secuencia blanco utilizando una enzima nucleasa 5' fluorogénica (llamada TaqMan). En la actualidad hay diversas formas de detectar la replicación del material genético como las sondas TaqMan, los Escorpiones, SYBR Green, Beacons y FRET, entre los más importantes. Las ventajas de este sistema incluyen la alta reproducibilidad, la capacidad de manejar altas cantidades de muestras, el potencial de cuantificar los resultados (carga viral), la cual esta tomando una relevancia impactante en nuestro país en la elaboración de inóculos controlados de alta calidad para PRRS, ya que de esta manera los resultados son repetibles y mucho más confiables. Las desventajas incluyen un alto costo del equipo y de personal altamente capacitado.



#### Otras pruebas de diagnóstico molecular:

**Hibridización:** los procedimientos de hibridización se basan en el pareo entre un ADN o ARN marcado (sonda) y complementarse con las secuencias de nucleótidos del ADN o ARN blanco. Como no se trata de una prueba donde se amplifiquen las secuencias del material genético es generalmente menos sensible que las pruebas de PCR.

**Hibridización *in situ*:** Es utilizada para la detección de microorganismos específicos en tejidos. La forma en que se detecta la unión de la sonda y sus nucleótidos complementarios, se realiza por una reacción colorimétrica que puede ser vista a

través de un microscopio de luz convencional. La ventaja más grande de esta prueba es la detección del agente patógeno dentro de las lesiones histológicas.

Las pruebas anteriores básicamente se utilizan con fines de investigación, aún y cuando en algunos laboratorios de otros países se encuentran como pruebas de catálogo.

Pruebas moleculares para diferenciación y caracterización genética:

**PCR diferencial:** El PCR diferencial puede en ocasiones ser utilizado para distinguir agentes relacionados de manera cercana. Es a final de cuentas un PCR múltiplex. Es necesario decir que no es recomendable utilizar esta prueba como una prueba tamiz, debido a su costo. Su uso queda restringido casi por completo a solo poder determinar si el patógeno esta presente en la explotación, seguimientos de programas de vacunación, control, erradicación de enfermedades y en cuestiones de comprobación de granjas libres de la enfermedad o situaciones relacionadas. Solo nos puede determinar la presencia o ausencia del material genético del patógeno en cuestión.

**Fragmento de Restricción de Polimorfismo (RFLP):** El análisis de RFLP es una técnica diferencial molecular que con ciertas limitantes puede distinguir virus a un nivel genómico. El RFLP se basa en la acción de enzimas de restricción (endonucleasas) las cuales reconocen secuencias específicas de nucleótidos y cortan el genoma en esa posición. En general el RFLP consiste en el aislamiento del microorganismo blanco de una muestra clínica, amplificando el segmento del ADN de interés, haciendo la restricción del segmento con las endonucleasas y la realización de una electroforesis para valorar los productos. Los patrones de los fragmentos obtenidos en el gel de electroforesis se utilizan para caracterizar o comparar los aislamientos. En general el RFLP requiere de aislamientos virales, sin embargo es posible realizar el RFLP utilizando productos de PCR. Es necesario indicar que en algunos casos la información que se obtiene del RFLP no puede ser concluyente para algunos patógenos, debido a que dentro de un mismo patrón de RFLP puede existir un sinnúmero de diferentes tipos del virus en cuestión. Este es el caso del virus de PRRS, en donde en la actualidad debido a que pierde muchas de las diferencias genéticas esta prueba esta entrando en desuso, dejando paso a la secuenciación.

**Secuenciación:** esta es una herramienta molecular que se utiliza para caracterizar la información genética del microorganismo evaluado al detalle. La secuenciación provee una lista de los nucleótidos en el genoma viral en el orden que ellos aparecen. La comparación de la información genética así obtenida nos permite diferenciar perfectamente entre virus, aún del mismo tipo. Se puede hacer una secuenciación completa o parcial del genoma viral para propósitos de análisis. Es interesante indicar que los patrones de RFLP y la secuencia de aminoácidos se pueden predecir a partir de los datos de la secuenciación. La mayor desventaja de la secuenciación es su alto costo. Otra de ellas que en la actualidad muchos grupos de investigación están dilucidando cada vez mejor, es que para PRRS la secuencia genética exacta responsable de la virulencia es desconocida. De igual forma normalmente se secuencia solo una pequeña parte de todo el material genético viral y posiblemente cambios potenciales en él no son identificados. La secuenciación puede ser útil en dar seguimiento a los cambios virales dentro de una granja a lo largo del tiempo, pero el significado clínico del código genético evaluado debe de ser mejor entendido. Por ello, la interpretación de las secuencias y la aplicación de estos resultados para tomar intervenciones dentro de la granja pueden ser problemáticos si los utilizamos como únicas pruebas de decisión.

Tomando como base resultados experimentales y cada vez más de campo, varios laboratorios indican que los resultados de secuencias que difieran más de un 0.5 a 1% entre virus de PRRS deben de ser considerados como virus no relacionados de manera cercana (heterólogos).



Como nos hemos podido dar cuenta existen una gran variedad de técnicas que podemos utilizar para realizar nuestro diagnóstico integral y llegar al diagnóstico final. Por ello también decimos que la mejor prueba diagnóstica es aquella que cumpla con los requisitos que se están buscando para obtener los resultados deseados.

Antes de seleccionar alguna prueba diagnóstica es necesario se hagan algunas preguntas y analicen las respuestas sobre el problema actual y sus diferentes estrategias de ataque y control:

1. ¿Cuál es la pregunta específica que queremos responder?
2. ¿Cuál es el grado de especificidad y/o sensibilidad que necesitamos de la prueba?
3. ¿Es importante la rapidez del diagnóstico?
4. ¿Es una limitante el costo de la prueba?
5. ¿La prueba que buscamos, realmente esta disponible en nuestra zona?

En la tabla siguiente podemos observar algunas características importantes para ser tomadas en cuenta en el diagnóstico molecular de PRRS, para la correcta elección de la prueba que se adapte mejor a nuestras necesidades.

<b>Detección</b>	<b>Presencia/Ausencia</b>	<b>Diferenciación tipo 1 y tipo 2</b>	<b>Diferenciación (parcial)</b>
<b>Tipo de prueba</b>			
RT-PCR	++++	SÍ	NA
RT-PCRn	+++++	SÍ	NA
RT-PCR-tr*	+++++	SÍ	NA
RFLP (ORF5)	NA	NA	+
Secuenciación	NA	SÍ	+++

<b>Detección</b>	<b>Diferenciación (completa)</b>	<b>Sensibilidad</b>	<b>Tiempo de respuesta</b>	<b>COSTO</b>
<b>Tipo de prueba</b>				
RT-PCR	NA	++	+++	++
RT-PCRn	NA	+++	+++	+++
RT-PCR-tr*	NA	+++++	+	+++
RFLP (ORF5)	-	NA	+++	+++
Secuenciación	+++++	NA	+++++	+++++

\*Es la única prueba que cuantifica carga viral real.

Con un análisis profundo de las respuestas anteriores, estamos seguros que podremos tomar las decisiones adecuadas para seleccionar la mejor o mejores pruebas para lograr nuestro objetivo, "El Diagnóstico".

La bibliografía utilizada para este documento esta disponible solicitándola al autor.