



DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE CIRCOVIRUS PORCINO TIPO 2 (PCV2) EN TEJIDOS Y SUEROS DE CERDO, POR MEDIO DE LA REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA EN TIEMPO REAL

Ortega R, Chapa J, Contreras N*
INVESTIGACIÓN APLICADA S.A.

INTRODUCCIÓN

El Circo Virus Porcino (PCV2) es uno de los virus más pequeños de los animales, de organización estructural relativamente simple: sin envoltura, con una cápside formada en su mayoría por una sola proteína, producto del fragmento de lectura abierto 2 (ORF2), con cadena simple de ADN de aproximadamente 1767 nucleótidos². Es un virus altamente resistente y de difícil eliminación.

El hospedador principal es el cerdo y, en los animales enfermos, se observa retraso en el crecimiento, ictericia, aumento en el tamaño de nódulos linfáticos, en ocasiones trastornos respiratorios leves a moderados, y una mayor susceptibilidad a infecciones bacterianas. La circovirus porcina tipo 2 por ser enfermedad emergente constituye un riesgo importante en la industria porcina del mundo, ya que es un factor de incremento de la mortalidad animal y de múltiples disfunciones en el crecimiento.

El empleo de técnicas modernas de diagnóstico y detección como lo es la PCR en Tiempo Real es de gran apoyo para la industria porcícola. Por lo que el objetivo de este trabajo fue detectar y cuantificar el virus de PCV2 en tejidos y sueros de cerdo por esta técnica.

MATERIALES Y METODOS

A partir de Agosto del 2007 a la fecha en el laboratorio de biología de Investigación Aplicada S.A. se emplearon 688 muestras de campo, especialmente de cerdos sospechosos a la infección por PCV2, tomando de estos animales el suero y órganos (nódulos linfáticos y pulmón). Los tejidos se maceraron para poder realizar la extracción² del DNA del virus, empleando el kit de extracción de DNA (QIAamp DNA Mini Kit, Qiagen), y así proceder a la detección y cuantificación por la técnica de PCR en Tiempo Real¹, utilizando el equipo Light Cycler 2.0, para lo que se utilizó una sonda TaqMan definida para este fragmento; así mismo se diseñó un plásmido específico con un peso molecular de 72 pares de bases para utilizarse como estándar conocido y poder cuantificar la carga viral de PCV2 en dichas muestras.

RESULTADOS

Los resultados se resumen en la tabla 1. En la cual se puede apreciar un total de 688 muestras, siendo el 80% de suero y el 20% de tejido, a todas las muestras se les realizó PCR en Tiempo Real con lo cual se obtuvo el 28% de positividad en sueros, y 40% en tejido.

Tabla 1

Muestra	No. de muestras	(+)	%
Tejido	551	156	28%
Suero	137	55	40%
Total	688		

Así mismo en la cuantificación de las muestras la concentración del virus en tejido se reveló más alta que en suero, lo cual indica que en los tejidos existe la posibilidad de encontrar más positividad y mayor cantidad de virus que en las muestras de suero.

La cantidad mínima de DNA viral que se encontró en suero es de 6.9×10^6 teniendo como valor máximo 8.0×10^9 partículas por mililitro, y en muestras de tejido se encontraron títulos de 2.15×10^9 como mínimo y como máximo de 1.07×10^{11} , como se observa en la tabla 2.

Tabla 2

Muestra	Título Mínimo por ml.	Título Máximo por ml.
Tejido	2.15×10^9	1.07×10^{11}
Suero	6.9×10^6	8.0×10^9

DISCUSIÓN

Es importante considerar que como ya se ha descrito en otros estudios³ y en base a los resultados de este trabajo es notable la cantidad de positividad en tejidos y la cantidad de virus es más elevada que en muestras de sueros, además de que el uso de macerados incrementa la respuesta de anticuerpos anti PCV2, y puede representar una alternativa para los productores³. Por lo que así el porcicultor puede basarse en este tipo de estudios para hacer un mejor control del virus en su ato y mejorar su producción además de poder apoyarse en técnicas de diagnóstico modernas con alta sensibilidad como lo es la PCR en Tiempo Real.

BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Opiessnig T, Vet Pathol, 2003.
- 2.- Tischer I, Nature, 1982.
- 3.- Hernández J, PCV2 Jalisco México, 2007.