



ASLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DEL CIRCOVIRUS PORCINO TIPO 2 (PCV2) A PARTIR DE MUESTRAS DE LINFONODULOS

Quezada M. F., Cortes F. R., Echeveste G. R., Lozano D. B., Sarfati M. D., Soto P. E., Lara P. J. H.*
Laboratorio Avi-Mex, S. A. de C. V., lara@avimex.com.mx

Introducción

El PCV2 es un virus ADN icosaédrico de 17 nm, de forma circular y desnudo, con una sola tira de DNA ambivalente (Fenaux *et al* 2004). El aislamiento viral (AV) se realiza principalmente en células PK-15, este resulta particularmente laborioso debido a que el virus requiere de células en proceso activo de mitosis que le suministren la ADN polimerasa, indispensable para el proceso de replicación viral (Tischer *et al* 1987). Su presencia es demostrada mediante pruebas de inmunoperoxidasa (IP), inmunofluorescencia o técnicas de biología molecular ya a que no produce efecto citopático.

Materiales y métodos:

Células: Se utilizaron células PK-15 libres de PCV2 con 24 horas de crecimiento y sensibilizadas con D-glucosamina.

Muestras: Linfonódulos obtenidos de animales de 3 diferentes granjas con signología compatible a PCVAD, estos se trabajaron como 9 macerados para aislamiento viral y 3 pools para PCR tiempo real cuantificado (PCRtrc).

Aislamiento Viral (AV)

Los macerados fueron filtrados a 0.22 µm para posteriormente infectar cultivos de células PK-15 con las características antes descritas. La presencia del virus fue confirmada con la prueba de IP (National Veterinary Research Institute, Pulawy; Poland 2007).

PCRtrc

Se realizó la extracción del material genético de los pools para posteriormente amplificar y cuantificar las partículas virales presentes en ellos utilizando el protocolo desarrollado por Cortes y col. (no publicado).

Resultados

AV: de los 9 macerados trabajados 7 resultaron positivos y 2 negativos de acuerdo con la demostración mediante la prueba de IP (Cuadro 1).

PCRtrc: los 3 pools resultaron positivos con una carga viral entre $10^{2.0}$ y $10^{3.0}$ partículas virales (pv)/ml (Cuadro 2).

Discusión

En este caso el virus de PCV2 pudo ser aislado e identificado tanto por la prueba de IP como por PCRtrc, presentando un 80% y 100% de positivos respectivamente. Estos resultados nos confirman la presencia del virus en México y concuerda con los resultados de seroprevalencia encontrados por Ramírez *et al* (2008) en donde el 97% de sueros trabajados resultaron positivos; en el caso del PCRtrc, Hernández *et al* (2008) reportó la presencia de cargas virales que van de $10^{3.0}$ a $10^{7.0}$ pv/ml a partir de tejidos. Igualmente se confirman los resultados de otros investigadores,

Trujano *et al* (2001) y Ramírez *et al* (2004), los cuales reportaron la detección del virus tanto por hibridación *in situ* como por AV. Resulta notable la relación entre las partículas virales detectadas por PCRtrc con los resultados positivos obtenidos en el AV y los núcleos teñidos detectados por IP, en donde a mayor número de muestras positivas, mayor carga viral/ml, así como mayor evidencia de núcleos teñidos.

Cuadro 1. Resultados obtenidos por medio de la prueba de inmunoperoxidasa.

Muestra	Resultado IP	Núcleos teñidos
1	Negativo	-
2	Positivo	++
3	Positivo	++
4	Positivo	+++
5	Positivo	+
6	Negativo	-
7	Positivo	++
8	Positivo	+
9	Positivo	+++

- Negativos; + Ligeros; ++ Moderados; +++ Abundantes

Cuadro 2. Resultados obtenidos por medio del PCRtrc.

Muestra	Pool por granja	Cuantificación (pv/mL)
1	Granja A	$1.7 \times 10^{2.0}$
2		
3	Granja B	$4.1 \times 10^{3.0}$
4		
5	Granja C	$2.1 \times 10^{3.0}$
6		
7		
8		
9		

Bibliografía

- Fenaux M. (2004). Tesis de Doctorado. Faculty of Virginia Polytechnic Institute.
Tischer I., Peters D., Rasch R., Pociuli S. (1987). Archives of Virology. 96:39-57
National Veterinary Research Institute, Pulawy; Poland (2007) NMSACC – PCVD. 61-71
Ramírez *et al.* (2008) VI Jornada Internacional de Producción Porcina
Hernández *et al* VI Jornada Internacional de Producción Porcina (2008)
Ramírez, MH *et al.* Memorias XXXIX congreso Nacional AMVEC (2004).
Trujano *et al.* PCV-2 from emaciated pigs in Mexico Vet. Rec. (2001)148:792.