



## PCR TIEMPO REAL ALTERNATIVA PARA EL DIAGNOSTICO DE LA ENFERMEDAD DEL OJO AZUL

Cuevas RS<sup>1</sup>, Alvarado IA\*<sup>1</sup>, Berg M<sup>2</sup>, Blomstrom A<sup>2</sup>, Colmenares GV<sup>1</sup>, Mejía SP<sup>1</sup>, García FA<sup>1</sup>.

CENID-M-INIFAP<sup>1</sup> SLU-UPPSALA SWEDEN<sup>2</sup>

### Introducción

La Enfermedad del Ojo azul, actualmente representa una barrera arancelaria en la exportación de cerdos al extranjero, esta enfermedad afecta a cerdos de diferentes edades, los cerdos más susceptibles son los de 2 a 15 días de edad, y los síntomas más notables son: cambios en el comportamiento, alteración nerviosa, alteración respiratoria, falla reproductiva en cerdas y en sementales, además de observarse en algunos casos opacidad de cornea de uno o ambos ojos.

El objetivo de este trabajo fue desarrollar un método de diagnóstico sensible y específico que permita detectar a los cerdos persistentemente infectados por el Rubulavirus porcino (PoRV-LPMV), agente causal de esta enfermedad.

### Material y Métodos

Este método se desarrollo y estandarizó para la detección de la Fosfoproteína del Rubulavirus porcino en muestras de sangre y tejidos, para su lectura el ensayo se adapto a un sistema en Light Cycler 1.5. Para la estandarización de esta técnica se trabajo con un plasmido desarrollado por uno de nuestros colaboradores en la Universidad de Agricultura de Suecia, constituido por un fragmento de 1384 pares de bases de la fosfoproteína de PoRV-LPMV. A partir de este plasmido se realizaron diluciones decimales seriadas para establecer la sensibilidad del ensayo, y posteriormente se probaron muestras de animales infectados natural y experimentalmente para validar el ensayo.

### Resultados

Los resultados obtenidos demostraron una sensibilidad del ensayo de 10 copias para la detección del control positivo, las condiciones del ensayo se establecieron básicamente de acuerdo al protocolo correspondiente al Light Cycler TaqMan Master, mediante el cual se determino la presencia del Rubulavirus porcino. Obteniendo una eficiencia del ensayo de 1.98% de acuerdo al sistema del equipo Light Cycler Instrument 1.5.

### Discusión y Conclusiones

La técnica de PCR tiempo real es eficiente para la detección de animales positivos al rubulavirus porcino con una alta sensibilidad, ya que es factible realizar un diagnóstico hasta con un mínimo de 10 copias. La tecnología obtenida es factible de ser aplicable en laboratorios de diagnóstico nacionales.

### Referencias

- Duvigneau JC, Hartl RT, Groiss S, Gemeiner M. (2005). *J of Immunological Methods* 306: 16-27.
- Belák, S. And Thorén. (2001) *Expert Rev Mol Diagn.* 1, 434-443.
- Berg M, Sundqvist A, Moreno-Lopez J, Linne T. (1991)..*J Gen Virol.* 72 :1045-50.
- Hjertner B, Linne T, Moreno-Lopez J.(1997). *Acta Vet Scand.* 38(3):213-24.
- McNeilly F, Walker I, Allan GM, Foster JC, Linne T, Merza M, Hernandez P, Kennedy S, Adair B.(1997). *J Vet Diagn Invest.* 1997 Jan;9(1):3-9.