



ESTABLECIMIENTO DE UN PCR MULTIPLE PARA LA DETECCIÓN DE *Brachyspira hyodysenteriae* y *Salmonella spp.* EN CERDOS.

Carrera SE¹; Socci EG¹; Diosdado VF^{1*}; Vázquez NJ¹; Corona BE²

¹CENID-.Microbiología, INIFAP. Km. 15.5 carretera México-Toluca, 05110, México DF.

²Universidad Autónoma de Yucatán.

Correspondencia con el autor: fernandodiosdado@yahoo.com.mx

INTRODUCCIÓN

Dentro de los principales agentes causales de enfermedades entéricas en los cerdos se encuentran la *Brachyspira hyodysenteriae* (*Bh*) y *Salmonella* entéricas patógenas (1,5). La presencia de estos gérmenes en los cerdos ocasiona pérdidas económicas debido a un incremento en los costos por medicación y pobre ganancia de peso (4). Su diagnóstico a nivel de granja se complica, ya que los cuadros clínicos son similares, además de que las pruebas tradicionales utilizadas basadas en el aislamiento, requieren de experiencia para llevarlas a cabo y son tardadas. El establecimiento de técnicas basadas en la biología molecular, dan como resultado un diagnóstico rápido y preciso de cada enfermedad.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para este propósito se llevó a cabo la extracción de ADN total a partir de cultivos de *Bh*, *Salmonella choleraesuis* y *Salmonella typhimurium* mediante el protocolo de laboratorio que utiliza el reactivo CTAB. La amplificación del ADN de *Bh* se llevó a cabo con la utilización de un par de oligonucleótidos cuya secuencia es: 5'-ACTAAAGATCCTGATGTATTTG-3' y 5'-CTAATAAACGTCTGCTGC-3' que amplifican un fragmento de 354 pb del gen *NADH* (3). Para la amplificación del ADN de *Salmonella spp.* se empleó un par de oligonucleótidos cuya secuencia es: 5'-TGCCTACAAGCATGAAATGG-3' y 5'-AAACTGGACCACGGTGACAA-3' que amplifican un fragmento de 457 pb del gen *invA*, responsable de la sobrevivencia de la salmonela en los macrófagos (2). Para verificar la especificidad de los oligonucleótidos para *Bh*, se realizó un ensayo con ADN extraído de *Brachyspira pilosicoli* (*Bp*), *Brachyspira innocens* (*Bi*) y *Brachyspira intermedia* (*Bit*).

RESULTADOS

Se logró amplificar los fragmentos esperados de 354 y 457 pb respectivamente a partir del ADN extraído de *Bh* y de las dos especies de salmonela empleadas en este estudio (figura 1). Por otra parte, se comprobó la especificidad de los oligonucleótidos para *Bh*, ya que no se observó ningún tipo de amplificación en el caso de *Bp*, *Bi*, y *Bit*.

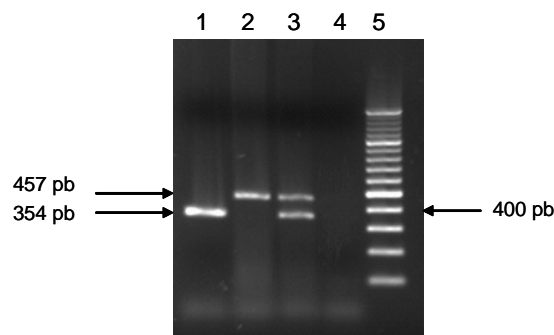


Fig. 1. Resultados del PCR múltiple para la detección individual y en combinación de *Bh* y *Salmonella spp.* Carril 1. *Bh*, Carril 2. *Salmonella spp.*, Carril 3. *Bh* y *Salmonella spp.*, Carril 4. Control negativo, Carril 5. Marcador de peso.

DISCUSIÓN

De acuerdo con los resultados obtenidos en este estudio se cuenta con una técnica molecular sensible y específica para la detección simultánea de estos agentes que causan problemas entéricos en los cerdos. En un estudio futuro se validará esta metodología con muestras obtenidas de animales de campo y se comparará con técnicas de referencia tradicionales.

REFERENCIAS

1. Barcellos *et al.*, 2000. *Vet Rec* 146:398-403.
2. Elder *et al.*, 1997. *J Vet Diagn Invest* 9:281-286.
3. La *et al.*, 2006. *Letters in Applied Microbiol* 42:284-288.
4. Moller *et al.*, 1998. *Vet Microbiol* 62:59-72.
5. Schwartz KJ., 1999. *Diseases of Swine* pp. 535-552.