REGRESAR AL MENU

DETECCIÓN SIMULTÁNEA DE *Brachyspira hyopdysenteriae, Salmonella spp* Y *Lawsonia intracellularis* EN HECES DE CERDOS POR MEDIO DE UN PCR MÚLTIPLE

Carrera SE[1]; Socci EG[1]; Diosdado VF[1]*; Vázquez NJ[1]; Corona BE[2]
[1]CENID-.Microbiología, INIFAP. Km. 15.5 carretera México-Toluca, 05110, México DF.
[2] Universidad Autónoma de Yucatán.
Correspondencia con el autor: fernandodiosdado@yahoo.com.mx

INTRODUCCIÓN

La enteritis proliferativa porcina (EPP), la disenteria porcina (DP) y la salmonelosis porcina (SP), son causadas por bacterias entéricas que provocan en los cerdos un cuadro grave de diarrea (2). La EPP es causada por la bacteria *Lawsonia intracellularis* (*Li*) y afecta a los cerdos de entre 6 y 20 semanas de edad, principalmente ocasiona una marcada pérdida de peso en el 70 % de los casos (4). El agente causal de la DP es *Brachyspira hyopdisenteriae* (*Bh*), afecta a cerdos en la etapa de crecimiento y engorda y se caracteriza por provocar diarrea mucohemorrágica. Dentro de las cepas que causan la SP, se encuentran *Salmonella cholerasuis* (*Sc*) y *Salmonella typhimurium* (*St*) y afecta a cerdos en crecimiento y engorda (2). El diagnóstico a nivel de granja se complica por la similitud de los signos clínicos, 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 oportuno para implementa los tratamientos y evitar así, las pérdidas económicas por la afectación de estas enfermedades.

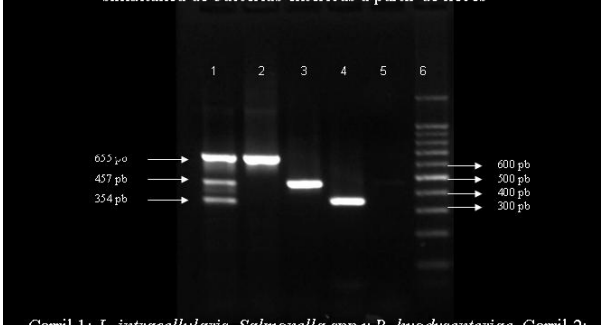
MATERIAL Y MÉTODOS

Se llevó a cabo la extracción de ADN total a partir de una vacuna comercial en el caso de *Li*, y a partir de cultivos celulares para *Bh*, *Sc* y *St* por medio de un kit comercial. La amplificación del ADN de *Li* se llevó a cabo con la utilización de un par de oligonucleótidos cuya secuencia es: 5'- GATAATCTACCTTCGAGACGG-3' y 5'-TGACCTCAGTGTCAGTTATCGT-3' que amplifican un producto de 655 pb del gen 16S rRNA. Para la amplificación del ADN de *Bh* se utilizó el par de oligonucleótidos cuya secuencia es: 5'-ACTAAAGATCCTGATGTATTTG-3' y 5'-CTAATAAACGTCTGCTGC-3' que amplifican un fragmento de 354 pb del gen NADH (3). Y 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* (1). Para comenzar con la evaluación de la prueba en campo, se realizó un muestreo por conveniencia en 3 granjas de ciclo completo. Se obtuvieron muestras de hisopo rectal de un total 30 cerdos de las etapas de crecimiento y engorda.

RESULTADOS

Se logró amplificar los fragmentos esperados de 655, 354 y 457 pb respectivamente a partir del ADN extraído de *Li*, *Bh* y de las dos especies de salmonella empleadas en este estudio (figura 1). En las muestras de campo, se logró detectar en una de ellas la presencia de *Bh*, no así *Li* ni salmonella.

Fig. 1. PCR Múltiplex para la detección individual o simultánea de bacterias entéricas a partir de heces



Carril 1; *L. intracellularis, Salmonella spp y B. hyodysenteriae,* Carril 2; *L. intracellularis,* Carril 3*; Salmonella spp*, Carril 4; *B. hyodysenteriae,* Carril 5; Control Negativo, Carril 6; Marcador de Peso

DISCUSIÓN

De acuerdo con los resultados obtenidos en este estudio se cuenta con una técnica molecular que ofrece la detección oportuna individual o simultánea de estos agentes que causan problemas entéricos en los cerdos. Se continuará con la evaluación en campo de la prueba, así como su validación con las pruebas de aislamiento correspondientes.

REFERENCIAS

1. Elder *et al*., 1997. J Vet Diagn Invest 9:281-286.
2. Kyum *et al.*, 2005. J Vet Science 6(4):289-293.
3. La *et al*., 2006. Letters in Applied Microbiol 42:284-288.
4. Rowland *et al.*, 1992. Iowa State University Press, Ames: 560-569.