

Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos, A.C.

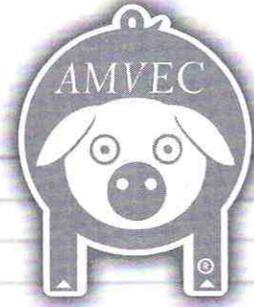
XLVII Congreso Nacional AMVEEC 2012

**TRABAJOS
LIBRES**

Diagnóstico

XLVII Congreso Nacional AMVEC 2012

Comentarios:



OPTIMIZACIÓN DE LA TÉCNICA DE REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA PARA LA DETECCIÓN DEL ORF V1 DEL CIRCOVIRUS TIPO 2

Carrera SE, Socci EG, Martínez LA, Corona BE, Diosdado VF*

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

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

INTRODUCCIÓN

El circovirus tipo 2 se asocia en los cerdos con el síndrome de desmedro multisistémico postdestete (PMWS). Afecta principalmente a los animales de entre 6 y 15 semanas de edad. Provoca retraso en el crecimiento y problemas respiratorios, entre otros. El diagnóstico clínico podría confundirse con otros trastornos como el síndrome disgenésico y respiratorio porcino (PRRS)(1). Por esta razón, las pruebas de laboratorio son muy importantes para un diagnóstico certero de la enfermedad. El objetivo de este trabajo fue optimizar la técnica de PCR para la identificación del circovirus tipo 2 en muestras clínicas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para el establecimiento de la técnica se realizó la extracción del ADN del virus con un kit comercial (High Pure PCR Template) a partir de un cultivo celular. Para la amplificación de un fragmento de 703 pb del ORF V1 se utilizaron los siguientes iniciadores:

CAGCAACATGCCAGCAAGAAGAA T y CGATCACACAGTCTCAGTAG (2). Las condiciones de amplificación fueron: Buffer de PCR 1X, 1.5 mM de MgCl₂, 200 μM de dNTP's, 20 pmol de cada iniciador, 1.25 U de Taq polimerasa Gold y 2 μl de ADN, para un volumen final de 25μl. El programa de amplificación fue de un ciclo a 94 °C 4 min, 35 ciclos a 94 °C 30 seg, 54 °C 30 seg y 68 °C 90 seg, y un ciclo de extensión final a 68 °C 3 min. Adicionalmente, se procesaron grupos de muestras de diferentes órganos (pulmón, nodo linfático, bazo y tonsila) procedentes de tres granjas con una historia clínica

compatible con el PMWS. Así mismo, para realizar un diagnóstico diferencial las muestras fueron procesadas por PCR para la detección del virus del PRRS (3).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se logró obtener el producto de amplificación esperado de 703 pb, a partir del ADN del circovirus tipo 2, así como de los grupos de órganos procedentes de las granjas (Fig 1). En contraste, el PCR referente a PRRS, resultó negativo.

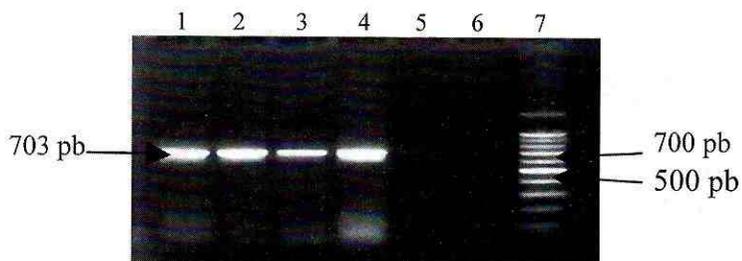


Fig1. Identificación del circovirus tipo 2 a partir de órganos de cerdos con signología del PMWS. Carril 1 granja 1, carril 2 granja 2, carril 3 y 4 granja 3, carril 5 control positivo, carril 6 control negativo, carril 7 marcador de tamaño.

CONCLUSIONES

Se logró la optimización del PCR para la detección del ORF V1 del circovirus tipo 2. Se cuenta con una herramienta molecular para el diagnóstico preciso del PMWS, con la cual es posible realizar un diagnóstico diferencial con el virus del PRRS; no obstante, es conveniente continuar con la validación de la metodología en muestras de campo.

1. Hernández J. 2011. Rev Porcicultura Iberoam 1:5.
2. Ogawa H *et al.*, 2009. J of Virol Meth 160:210-214.
3. Diosdado F *et al.*, 2008. J Anim Vet Adv 7(1):17-20.