

DISEÑO DE UNA TÉCNICA PARA OPTIMIZAR LA DETERMINACIÓN DE FACTOR PRECOZ DE PREÑEZ EN PORCINOS

Gregorat, F.¹; Grosso, C.²; Cuello, F.²; Martinez, R.²; Vivas, A.²; Greco, C.¹. 2006.
Vº Congreso de Producción Porcina del Mercosur.

¹ Dpto de Microbiología e Inmunología. FCEFQyN UNRC, Río Cuarto, Argentina.

² Lab. de Radioisótopos. FAV UNRC, Río Cuarto, Argentina.

www.produccion-animal.com.ar

[Volver a: Vº Congreso](#)

INTRODUCCIÓN

El diagnóstico de preñez es una herramienta de gran valor económico en los criaderos de cerdos. La búsqueda de marcadores de preñez temprana es objeto de interés tanto en investigación como en producción. Entre las sustancias que aparecen tempranamente en el suero de una cerda gestante se destaca el Factor Precoz de Preñez (EPF) detectado a las 72 hs post-fertilización. El EPF es una proteína de 29 kDa que puede ser utilizada como inmunógeno, para producir Ac anti-EPF, lo que permitiría detectar EPF por técnicas inmunológicas como un ELISA. Por otra parte, el suero de una cerda posee una mezcla compleja de proteínas que interfieren en la determinación del factor. Por ello, el objetivo de este trabajo fue desarrollar una técnica que optimice la determinación del EPF, absorbiendo las proteínas no propias de la preñez.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se obtuvieron Ac anti-suero de cerda vacía (SCV) por inmunización experimental en conejos. Estos anticuerpos se utilizaron para absorber los sueros de cerdas preñadas (SCP) y así eliminar proteínas inespecíficas de la preñez. Con el fin de determinar las cantidades óptimas de Ac y SCP a absorber se confeccionó una curva de precipitación. Se deslipidizaron sueros de cerdas preñadas de 30 días de gestación y también de vacías, como control negativo. Para absorber las proteínas inespecíficas de la preñez del SCP se mezclaron los sueros en la siguiente relación: 4,85 mg de proteína del Ag (SCP) con 1,2 mg de Ac anti-SCV. Luego de 24 hs de incubación se precipitó la mezcla por centrifugación 30 min a 5000 rpm. (Margni, A.R.,1996). Las proteínas presentes en el sobrenadante (proteínas específicas de la preñez) se analizaron por SDS-PAGE en condiciones desnaturizantes y no desnaturizantes. Para determinar la presencia de EPF se realizó un Western Blot utilizando como Ac Primario anti-EPF porcino en conejos y como Ac Secundario una anti-IgG de conejo marcada con peroxidasa (Sigma). Las bandas se revelaron con DAB (Sigma FastTM).

RESULTADOS

De acuerdo a nuestros resultados la absorción de los sueros en la proporción Ag/Ac descrita, disminuye la cantidad y tamaño de las bandas que aparecen en el SDS-PAGE particularmente aquellas correspondientes a proteínas inespecíficas de la preñez, por ejemplo la albúmina. Este tratamiento también refleja un mejor resultado en el Western Blot, ya que después de la incubación con Ac anti-EPF, se observa, de manera más nítida, una banda a la altura del peso molecular de 29 kDa que correspondería al factor.

DISCUSIÓN

Como fuera descrito el EPF es una proteína que se encuentra en bajas concentraciones y aumenta en la gestación temprana. Para determinarla se emplean bioensayos, inviables de realizar a campo, que lo estiman indirectamente (RIT técnica propuesta por Morton et al, 1974; validada por Greco et. al, 1992). En nuestro laboratorio se intenta desarrollar un ELISA para la determinación sérica del EPF en SCP.(Grosso et. al, 2003). La pre-purificación de los sueros mejoraría la sensibilidad del método. La metodología descrita en este trabajo utilizando Ac anti-SCV eliminaría algunas proteínas que interfieren con el EPF.

BIBLIOGRAFÍA

- 1 GRECO, C; VIVAS, A; BOSCH, R. Evaluación del método de detección de EPF en cerdos. *Physiol. Pharmacol. y Therap.Latinoam.*1992
- 2 GROSSO, C; GRECO, C; SCHADE, R; VIVAS, A. "Detection of Early Pregnancy Factor (EPF) In Porcine Placenta Conditioned Medium (PPCM) by mammals polyclonal antibodies (pAbs). Simposio materno-fetal.sao Paulo-Brasil, 2 al 5 de dic 2003.

- 3 MORTON, H; CAVANAGH, A, C.; ATHANASAS-PLATIS, S.; QUINN, K, A ; ROLFE, B. Early Pregnancy Factor has immunosuppressive and growth factor properties. *Reprod and Fertile Dev.* 4(4):411-422.1992
- 4 MARGNI, A R. *Inmunología e Inmunoquímica.* 5° Edición. Ed. Panamericana. p 681-694, 799-820.1996.

[Volver a: V° Congreso](#)