

# DETECCIÓN DE *LAWSONIA INTRACELLULARIS* POR LA TÉCNICA DE PCR EN MUESTRAS DE MATERIA FECAL

Corrales M. J. P.<sup>1</sup>; Bertone, J.<sup>1</sup>; Illanes, N.<sup>1</sup>; Tamiozzo, P.<sup>1</sup> y Ambrogi, A.<sup>1</sup>. 2006. Vº Congreso de Producción Porcina del Mercosur. 1-Depto. de Patología Animal FAV-UNRC. [www.produccion-animal.com.ar](http://www.produccion-animal.com.ar)

[Volver a: Vº Congreso](#)

## INTRODUCCIÓN

*Lawsonia intracellularis* (LI) es el agente etiológico de la **Enteropatía Proliferativa Porcina** (EPP) una de las más importantes enfermedades entéricas del cerdo. Afecta animales de distintas edades provocando disminución del crecimiento, ganancia desigual de peso.(1). Uno de los métodos diagnósticos más específicos y sensibles es la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de heces y la mucosa del ileon, cuya sensibilidad puede variar pero su especificidad es muy consistente (cerca del 97%). El objetivo de este trabajo fue determinar la presencia de *Lawsonia intracellularis* por PCR en animales de distintas edades comparando 2 colorantes distintos del gel de visualización.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se procesó por PCR (2) un total de 90 muestras de materia fecal de cerdos de 8, 14 y 22 semanas de edad, elegidos al azar, obtenidas de 3 establecimientos sin datos anteriores de prevalencia LI. El proceso de extracción de ADN de la muestras de materia fecal fue realizado utilizando el Kit QIAamp DNA Stool Mini Kit (QIAGEN). La prueba de PCR usada, con algunas modificaciones, se realizó de la siguiente manera: Usando un volumen final de 25 ul, con 3 ul de ADN, con 1 X de buffer, 1,25 U de taq polimerasa, 0,1 mmol de cada dNTP y 0,2 umol de cada primer. Los ciclos usados fueron los siguientes: 15 min a 95°C, 35 ciclos de 30 seg. a 95°C (desnaturalización), 90 seg. a 58°C (hibridación) y 2 min a 68°C (extensión), seguido por un ciclo final de extensión de 10 min. a 68°C. El producto final fue sembrado (5ul) en gel de agarosa al 1% con bromuro de etidio (BE) y con SYBR Green (ambos colorantes para la detección de ADN) y corrido a 70 voltios por una hora. Los geles fueron colocados en un transiluminador para su observación.

## RESULTADOS

En la tabla 1 se muestran los resultados de positivos sobre el total de muestreados para ambos geles y cada granja, Con SYBR las bandas fueron más definidas y nítidas (ver figuras 1 y 2 donde se comparan ambos geles). Con el uso de este colorante se detectó mayor cantidad de positivos que con BE (excepto en establecimiento A a las 22 semanas; establecimiento B a las 22 semanas y establecimiento C a las 14 semana). Con respecto a la edad de los animales en el establecimiento A fueron aumentando los animales positivos a medida que aumentaba la edad de los mismos. En el establecimiento B la mayor cantidad de positivos se presenta a las 14 semanas, y en establecimiento C a las 22 semanas.

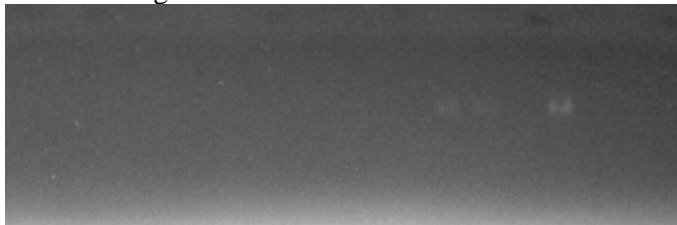
Tabla 1. Resultados de PCR para LI. Positivos sobre el total de muestreados en geles de B.E y SYBR Green.

EDAD SEMANAS	ESTABLECIMIENTO					
	A		B		C	
	BE	SYBR	BE	SYBR	BE	SYBR
8	1/10	4/10	2/10	5/10	8/10	6/10
14	3/10	5/10	6/10	8/10	8/10	7/10
22	5/10	4/10	2/10	1/10	10/10	10/10

Figura 1. Gel con SYBR Green



Figura 2. Gel con Bromuro de etidio.



## DISCUSIÓN

En todos los establecimientos a partir de las 8 semanas se detectaron animales positivos. Cada establecimiento mostró diferentes patrones de comportamiento del agente (3). En el establecimiento A, el número de animales positivos es relativamente bajo, lo que indicaría la presencia de LI, pero no el desarrollo activo de la enfermedad. En el establecimiento C, el número de animales positivos fue el mayor de todos, esto indicaría una forma activa de infección. (posiblemente por gran cantidad de LI eliminada por materia fecal, altos niveles de estrés y alta carga bacteriana en las instalaciones). En el establecimiento B los animales se infectarían y luego se negativizarían, no desarrollándose enfermedad.

Con respecto a los colorantes de los gels, si bien SYBR Green demostró mayor nitidez de las bandas respecto al BE, éste a su vez produjo una mayor visualización de material sin amplificar o residuos de reacción que podrían dificultar la visualización de las bandas.

## REFERENCIAS

- 1-Gebhart, C.(2004) Res. Update: *1<sup>st</sup> Novartis Animal Health. Europ Swine Ileitis/ Colitis Workshop*. P. 6 – 10.
- 2- Hampson D. 2005 trabajo aceptado
- 3- McOrist, S. 2004 Res. Update: *1<sup>st</sup> Novartis Animal Health. Europ Swine Ileitis/ Colitis Workshop*. P. 14.

Volver a: [Vº Congreso](#)