UTILIZACIÓN DEL PCR PARA EL DIAGNÓSTICO DEL VIRUS DE LA LEUCOSIS BOVINA EN CUBA

Savón L. C.,[1] Coroas L.,[1] Fernández A. R.,[1] Corona B.,[1] Noda L.,[2] Barreras M.[2] y Castell S.[2]

[1]*Departamento de Biología Molecular.* [2]*Departamento de Virología. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA). Apartado 10, San José de las Lajas, Cuba.*

Introducción

El virus de la Leucosis Bovina (BLV) es un retrovirus tipo C que ocasiona linfosarcomas y linfocitosis persistente en terneros. Recientemente diversos autores han desarrollado la detección de ADN proviral y de secuencias de ARN de BLV mediante la reacción en cadena de la polimerasa (1, 2, 3, 4, 5 y 6), debido a la importancia de poseer métodos que permitan realizar una eficiente detección, ofreciendo resultados no ambíguos y que puedan detectar precozmente la infeccion, lo que posibilitaría evitar el contacto de animales infectados con los que no lo están, facilitando la erradicación y control de esta enfermedad. El propósito de este trabajo es la introducción del PCR en el diagnóstico de la leucosis bovina en Cuba.

Materiales y Métodos

Las muestras de sangre, tomadas por punción de la yugular se procesan y a partir de ellas se extrae el ADN linfocitario. Para la preparación de las muestras directas se utilizó un procedimiento publicado en 1992 (7). La detección de anticuerpos en suero bovino se realizó mediante análisis ultramicroanalítico. En el ensayo de amplificación utilizaron las condiciones descritas por Ballagi-Pordany (1).

Resultados y Discusión

En este trabajo se utilizaron en la amplificación cebadores que flaquean la región que codifica para la glicoproteína de la envoltura gp51. Se escogió esta región por ser altamente conservada en cepas provenientes de varios países (1). Se amplificó, en las muestras positivas, un fragmento de la talla esperada. Los resultados en el caso de la amplificación con muestras directas coincidieron con los obtenidos a partír de ADN linfocitario extraído de las mismas muestras. La prueba resultó específica ya que no se obtuvo amplificación al utilizar muestras de animales negativos a BLV. La ausencia de amplificaciones inespecíficas se probó incorporándose en cada experimento una muestra control de agua y controles positivos y negativos. El uso de PCR brinda la ventaja de ser mucho más sensible y brinda resultados,no ambíguos en cuanto al estatus real de la infección por BLV en adultos y recién nacidos (8). Tiene además la ventaja de no ser necesaria la purificación de ADN para realizar el ensayo y que son necesarias sólo pequeñas cantidades de sangre (menos de 100 µL). El PCR debe utilizarse para investigar la prevalencia de BLV en terneros que van a ser utilizados para la producción de sueros o vacunas, para detectar la presencia del virus en animales de importancia económica (ej.sementales) o como un método complementario y confirmatorio en la detección individual de infección por BLV en el ganado.

1. Ballagi-Pordany A. *et al.* J Vet Med B.1992;39:69-77.
2. Kuzmak J. *et al.* Acta Biochim Pol. 1991; 38:107-110.
3. Kelly J. *et al.* Am J Vet Res 1993; 54:205-209.
4. Murtaugh MP *et al.* J Vir Meth 1991; 33:73-85.
5. Poon H. *et al.* J Vir Meth 1993;41:101-112.
6. Sherman M. *et al.* J Clin Microb 1992; 30:185-191.
7. BioFeedback. BioTechniques 1992; 13:522.
8. S-Agresti A. *et al.* Am J Vet Res 1993; 54:373-377.