



XLI SESIÓN DE COMUNICACIONES CIENTÍFICAS
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
2021

ISSN 2451-6732



Optimización de condiciones experimentales para la identificación del genoma del virus Herpes Simplex Equino 1 y 4 utilizando una reacción seminested

Jastrzebski F.¹; Maruñak S.^{1*}; Esquivel G.¹; De Biasio M.B.¹; Almirón E.¹

Servicio Veterinario de Biología Molecular. Sargento Cabral 2019, (3400) Corrientes Facultad de Ciencias Veterinarias, (U.N.N.E).

* Email: smarunak@yahoo.com.ar

Resumen:

Las pérdidas gestacionales ocasionadas por infecciones virales, bacterianas y fúngicas, tienen una alta prevalencia en la industria hípica, traducéndose en elevadas pérdidas económicas en los haras de nuestro país. Estos agentes producen brotes enzoóticos por lo que el diagnóstico precoz constituye uno de los pilares para el control de estas enfermedades y es por eso que la utilización de técnicas diagnósticas rápidas son fundamentales para decidir las medidas profilácticas y terapéuticas a emplear. Con el objetivo de optimizar las condiciones experimentales para la identificación del genoma de virus de Herpes Simplex Equino 1 y 4 utilizando una reacción de cadena de la polimerasa (PCR) seminested. Las reacciones de amplificación fueron llevadas a cabo con un volumen final de 25µl y contuvieron: 1X de Buffer de PCR, 2,5mM MgCl₂, 2,0µM de cada oligonucleótido cebador (HVE-1Fw/ HVE-1Rew para la primer ronda de amplificación y HVE-1Fw/ HVE-1Rn para la segunda ronda de amplificación para virus de herpes simplex equino 1 y HVE-4Fw/ HVE-4Rew para la primer ronda de amplificación y HVE-4Fw/ HVE-4Rn para la segunda ronda de amplificación para virus de herpes simplex equino 4); 200µM de una mezcla equimolecular de dNTPs, 0,5U de Taq ADN polimerasa. En todos los casos se incorporaron controles positivos consistentes en ADN de HVE 1 y HVE 4 cedidos gentilmente por el Instituto de Virología Equina del INTA Castelar y controles negativos consistentes en agua destilada. Las condiciones térmicas para la amplificación fue idéntica para ambas rondas de amplificación y ambos tipos virales: desnaturalización inicial: 95°C por 5min, luego 35 ciclos de desnaturalización a 95°C por 30seg; pegado de primer: 60°C por 30seg; extensión: 72°C por 60seg; extensión final: 72°C por 1min; incubación: 4°C hasta su utilización. Los tamaños de los productos de amplificación de la primera y segunda ronda fueron fragmentos de 636pb y 287pb para HVE-1 y de 509 y 323pb para HVE4. Éstos fueron separados y visualizados por electroforesis en gel de agarosa 2%, teñidos con bromuro de etidio y observados por transiluminación UV. Dada la elevada sensibilidad y especificidad del método molecular empleado, cuando fueron aplicados a muestras de control positivos ambas dieron bandas de amplificación detectables del tamaño esperado, no observándose bandas indicativas de reacciones cruzadas.

Palabras clave:

PCR, abortos, Equinomolecular