

RT-PCR convencional y a tiempo real con SYBR Green para el diagnóstico de peste equina africana

Ana Sánchez Rodríguez

Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid. Avda. Puerta del Hierro s/n. 28040 Madrid.
ana.sanchez.rodriguez@hotmail.com

Almudena Sánchez-Matamoros. José Manuel Sánchez-Vizcaino.

Centro VISAVET y Departamento de Sanidad Animal. Facultad de Veterinaria. UCM. Madrid.
almudena@sanidadanimal.info jmvizcaino@vet.ucm.es

Resumen: La Peste Equina Africana (PEA) es una enfermedad vírica que afecta a los équidos y se transmite vectores del género *Culicoides*. El agente etiológico es un virus del género *Orbivirus*. Su genoma es ARN de doble cadena, que codifica para siete proteínas estructurales (VP1-VP7) y cuatro no estructurales (NS1-NS3A), que diferencian nueve serotipos. La proteína NS3 es la segunda más variable entre serotipos, y presenta la peculiaridad de no replicarse en vacunas inactivadas permitiendo diferenciar animales infectados y vacunados (DIVA). La PEA es una enfermedad de declaración obligatoria en la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) por su gran capacidad de difusión y el gran impacto socioeconómico que causa, provocando grandes restricciones en el comercio internacional. Por ello, es importante en el control y prevención de la enfermedad realizar un diagnóstico rápido. La OIE recomienda varias técnicas de diagnóstico, entre las que se encuentra la RT-PCR, una técnica rápida, sensible y específica. El objetivo de este trabajo es el diseño de una RT-PCR convencional y a tiempo real con SYBR Green frente a todos los serotipos de PEA. Se determinaron las regiones más conservadas del genoma de la proteína NS3 en todos los serotipos, realizándose el diseño de los cebadores y la puesta a punto con distintos serotipos, una primera validación con los serotipos 2, 4 y 9; y posterior validación con el resto. Se ha realizado la primera validación detectando los tres serotipos, presentando una mayor sensibilidad la RT-PCR en tiempo real que la convencional. Esta RT-PCR permitirá identificar de manera rápida animales infectados con PEA, presentando una potencial aplicación como método de diagnóstico DIVA siendo necesaria su validación previa.

Palabras clave (Calibri 12 negrita): Peste Equina Africana. Diagnóstico. RT-PCR convencional. RT-PCR a tiempo real con SYBR Green. Proteína NS3.

Oral

Recibido: 11 marzo 2012.
Aceptado: 13 abril 2012.