USO PRÁCTICO E INTERPRETACIÓN DE LA SEROLOGÍA Y PCR EN CAMPO

Roser Dolz Pascual

Joaquín Girón Solsona

WPSA, Valencia, 2014

CReSA
Centre de Recerca en Sanitat Animal

MSD Animal Health

PH Ibérica
Albio Ferm

TOMA DE MUESTRAS

- ÓRGANOS
- TIPO DE MUESTRA
- MÉTODO CONSERVACIÓN

TIPO ESTUDIO LABORATORIAL

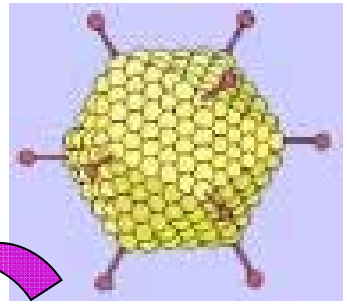
- HISTOPATOLÓGICO
- MICROBIOLÓGICO
- SEROLÓGICO
- MOLECULAR
- PARASITOLÓGICO

PATOLOGÍA QUE SE SOSPECHA

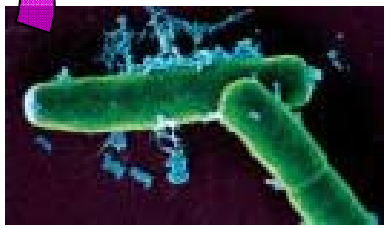
- ETIOLOGÍA
- PATOGENIA

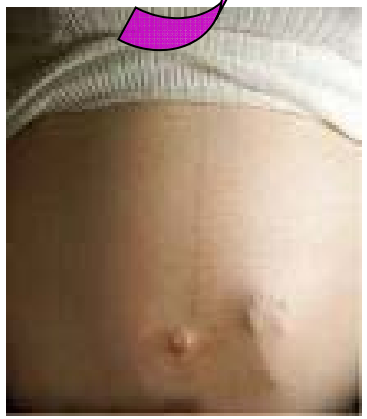
PCR Y TÉCNICAS DE SECUENCIACIÓN

BIOLOGÍA MOLECULAR



BIOLOGÍA MOLECULAR



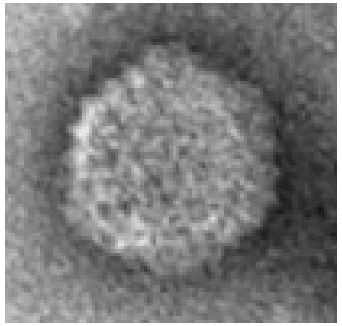


¿QUÉ DETECTAN LAS TÉCNICAS DE BIOLOGÍA MOLECULAR?

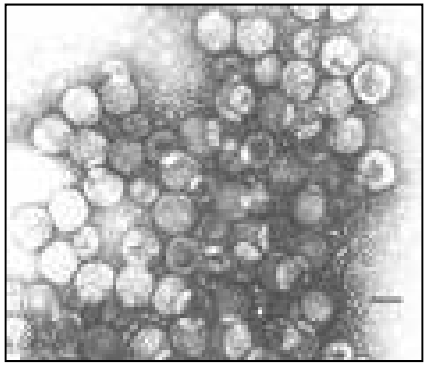
ADN

ADN / ARN → Material hereditario

Responsable de la identidad y de la diversidad de los individuos

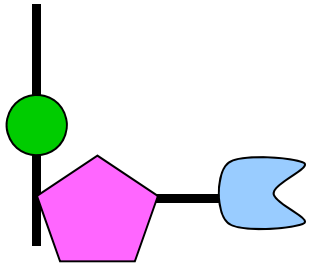


Su estudio permite la identificación y clasificación de los agentes infecciosos

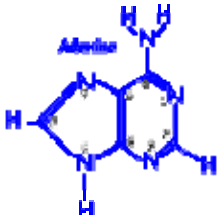


ADN

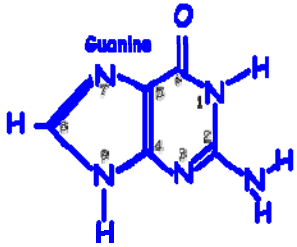
NUCLEÓTIDO

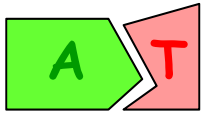


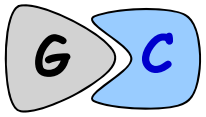
ADENINA

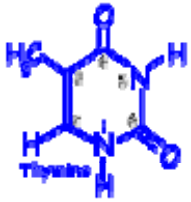


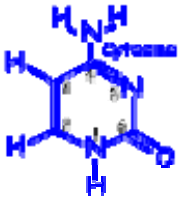
GUANINA





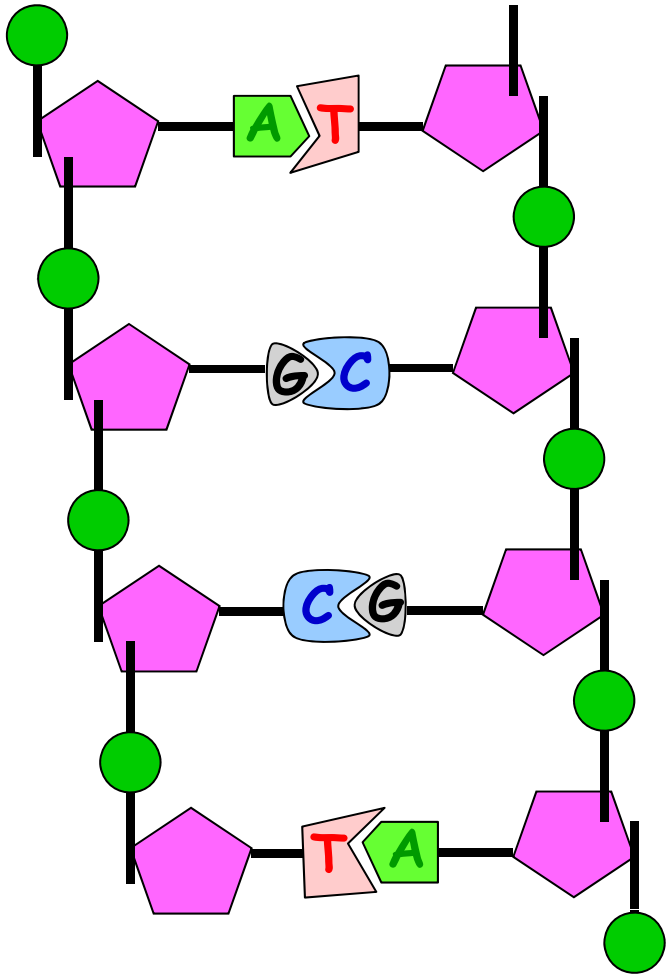






TIMINA

CITOSINA



A G C T

T C G A

4 pares de bases

¿QUÉ INFORMACIÓN NOS PUEDEN DAR?

TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO MOLECULAR

Detección y estudio del material genético organismos

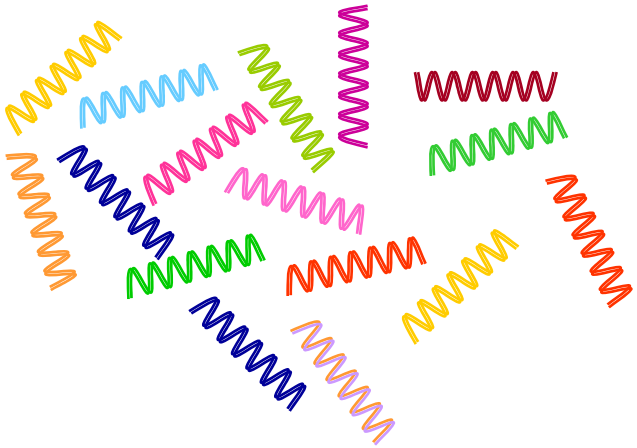
DETECCIÓN MICROORGANISMO	CUANTIFICACIÓN MICROORGANISMO	TIPIFICACIÓN MICROORGANISMO
Ausencia o presencia de un agente infeccioso (de su genoma)	Cantidad de genomas presentes en una muestra de un determinado organismo	Clasificación en **genotipos** Correlación con fenotipo (patogenicidad, serotipo)
PCR	PCR a tiempo real (cuantitativa)	Secuenciación

FUNDAMENTOS PCR

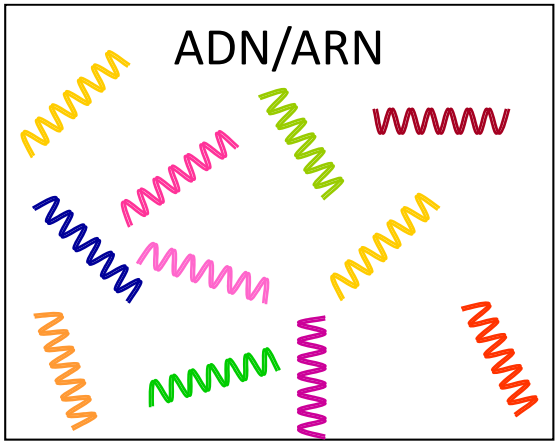
AMPLIFICACIÓN

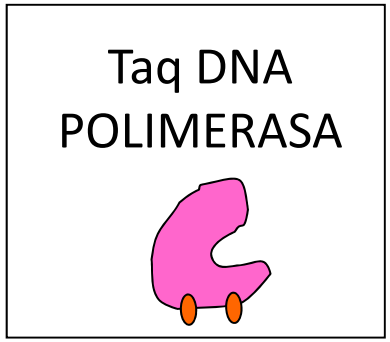
Específica

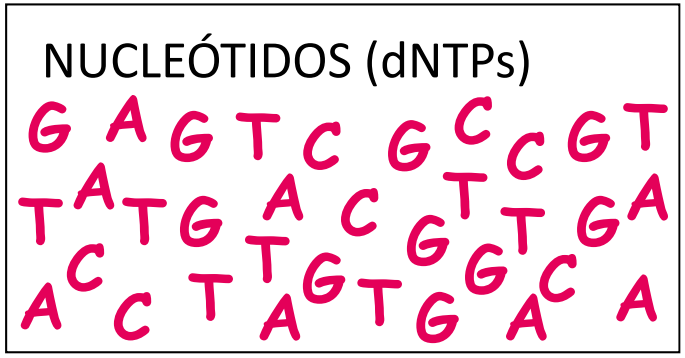
EXTRACCCIÓN
ADN/ARN

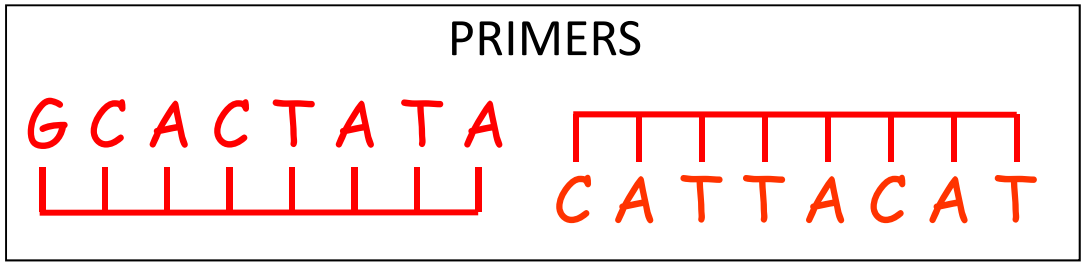


FUNDAMENTOS PCR

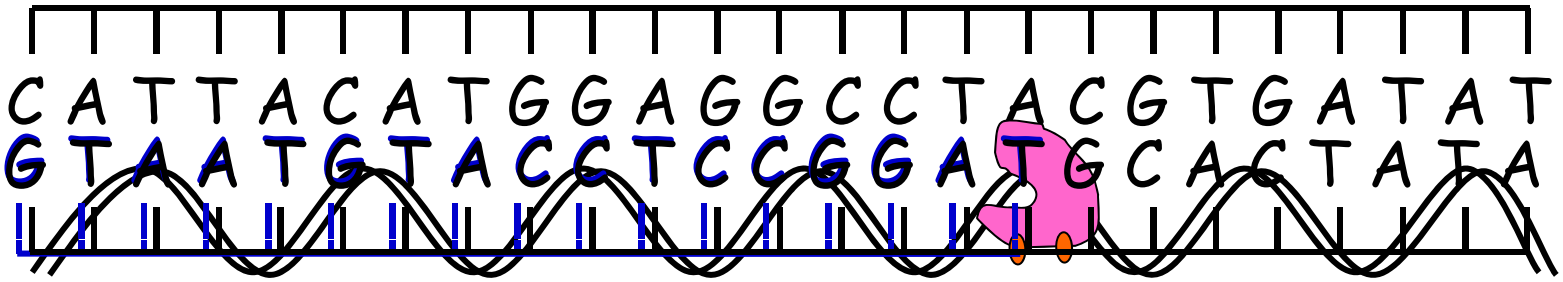


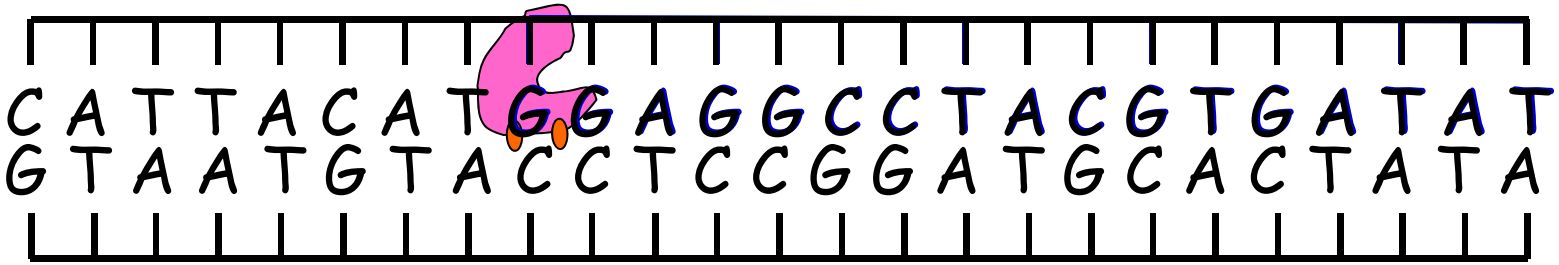




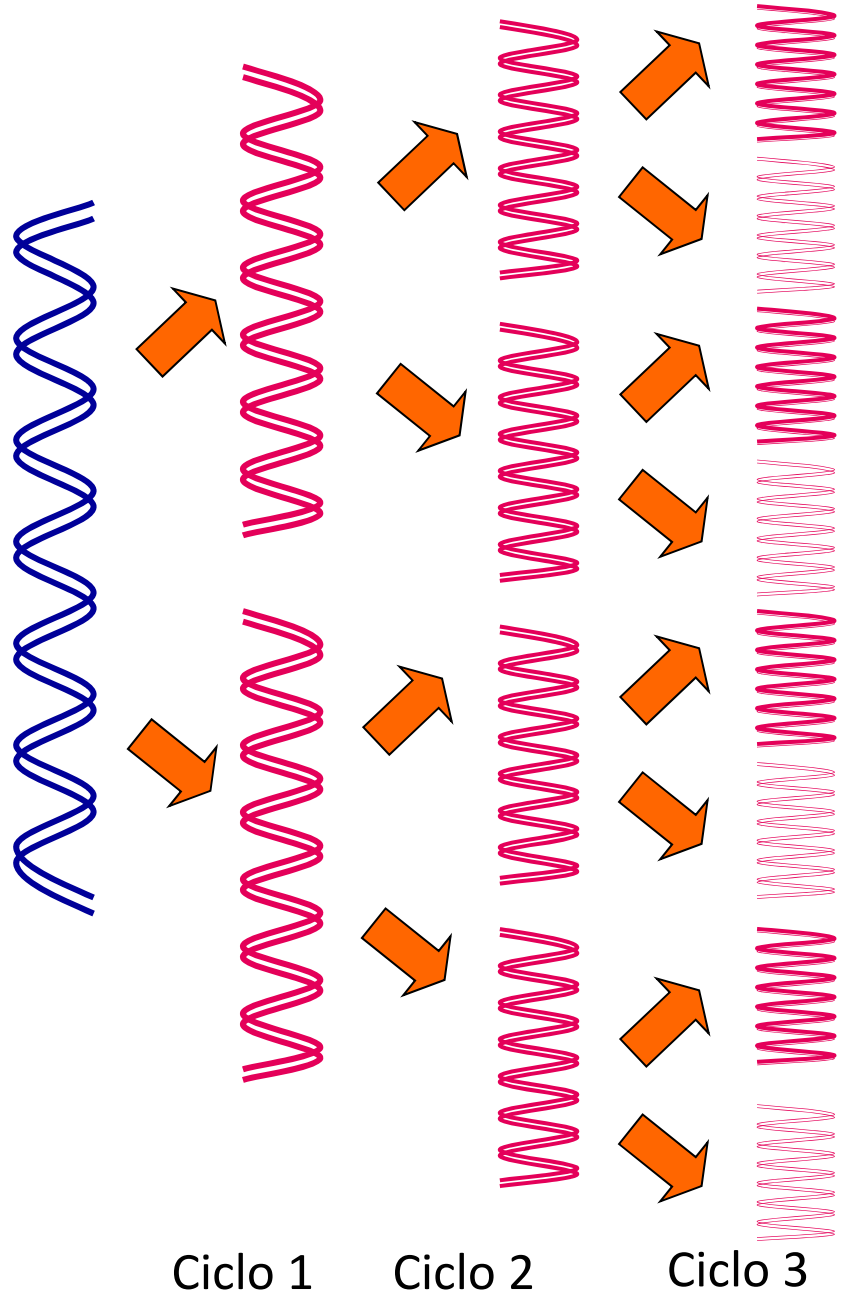


25 pares de bases





FUNDAMENTOS PCR



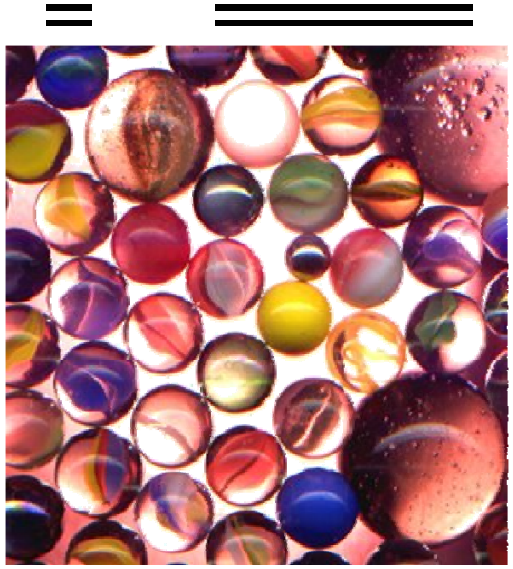
AMPLIFICACIÓN

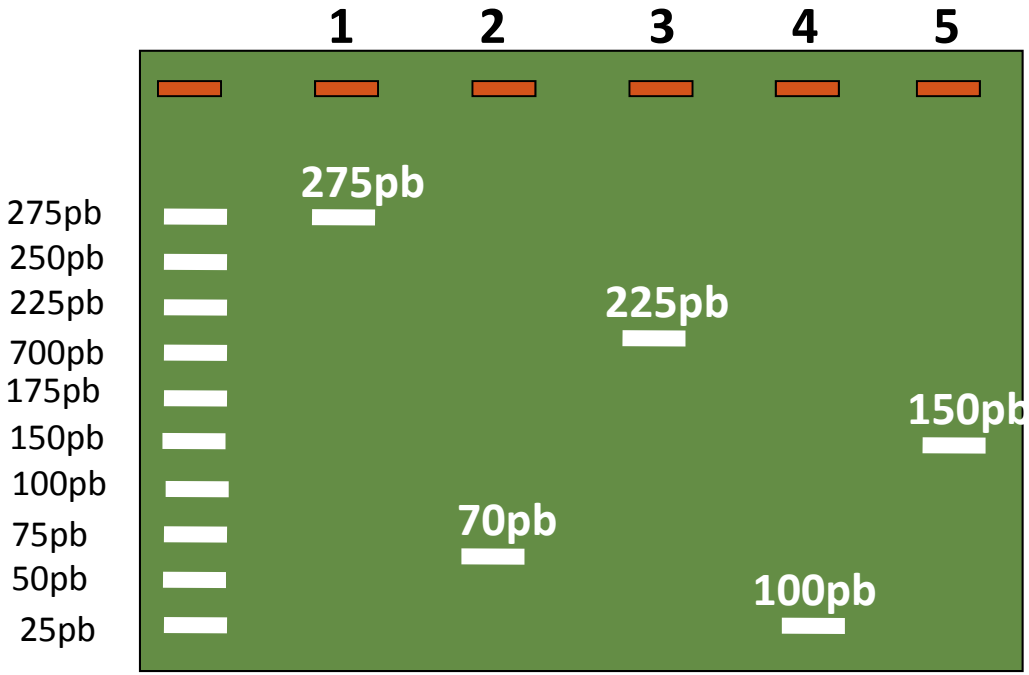
- Específica
- Exponencial

1 PCR → 30-35 CICLOS

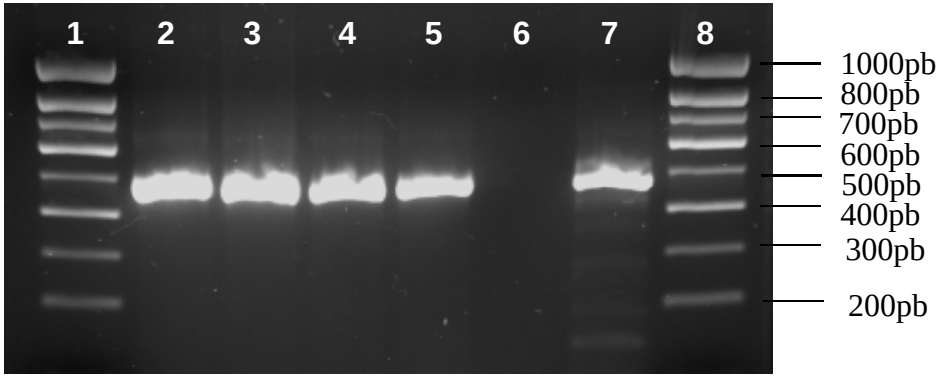
X 10.000.000.000

FUNDAMENTOS PCR



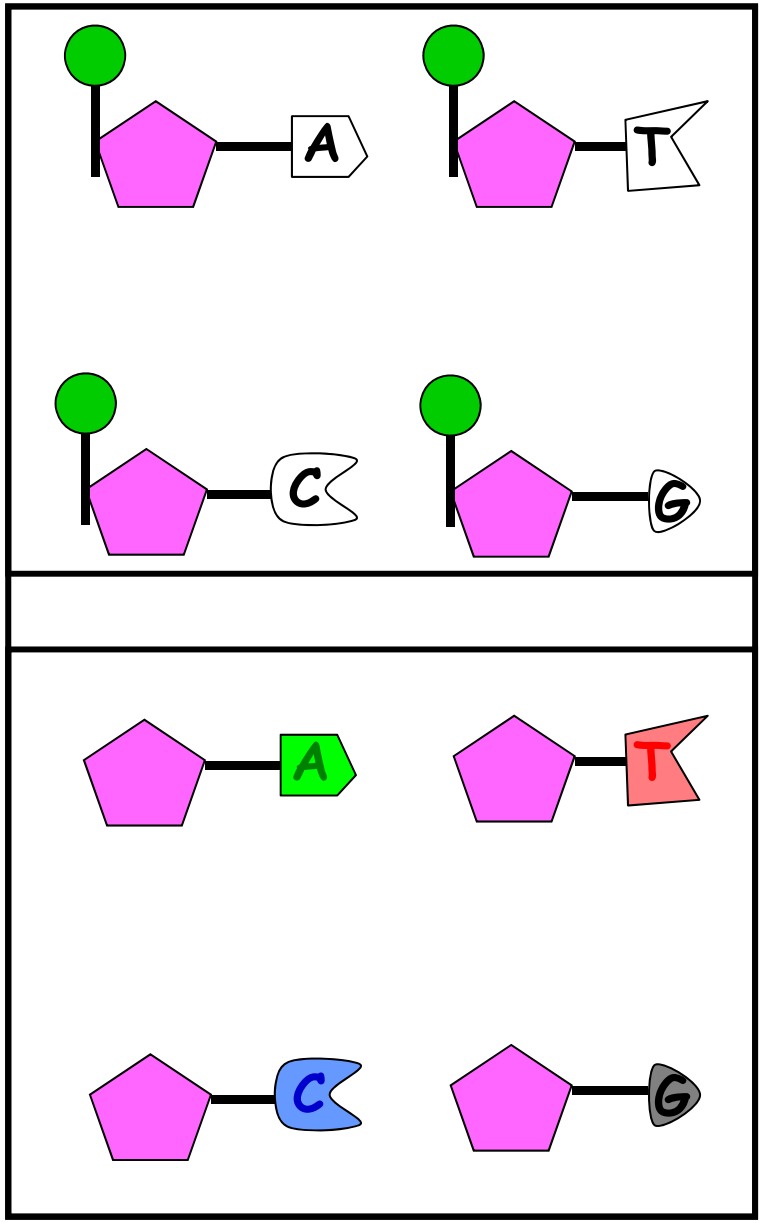


FUNDAMENTOS PCR



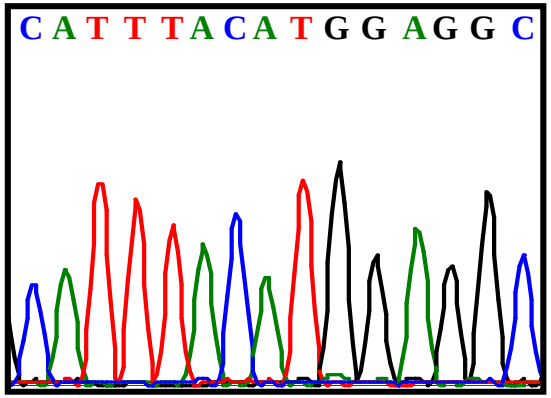
VENTAJAS	INCONVENIENTES
Elevada sensibilidad	Coste
Rapidez	Conservación muestras
Posibilidad tipificar	**No información de la viabilidad del agente infeccioso**
	Necesidad información genética del agente infeccioso

SECUENCIACIÓN



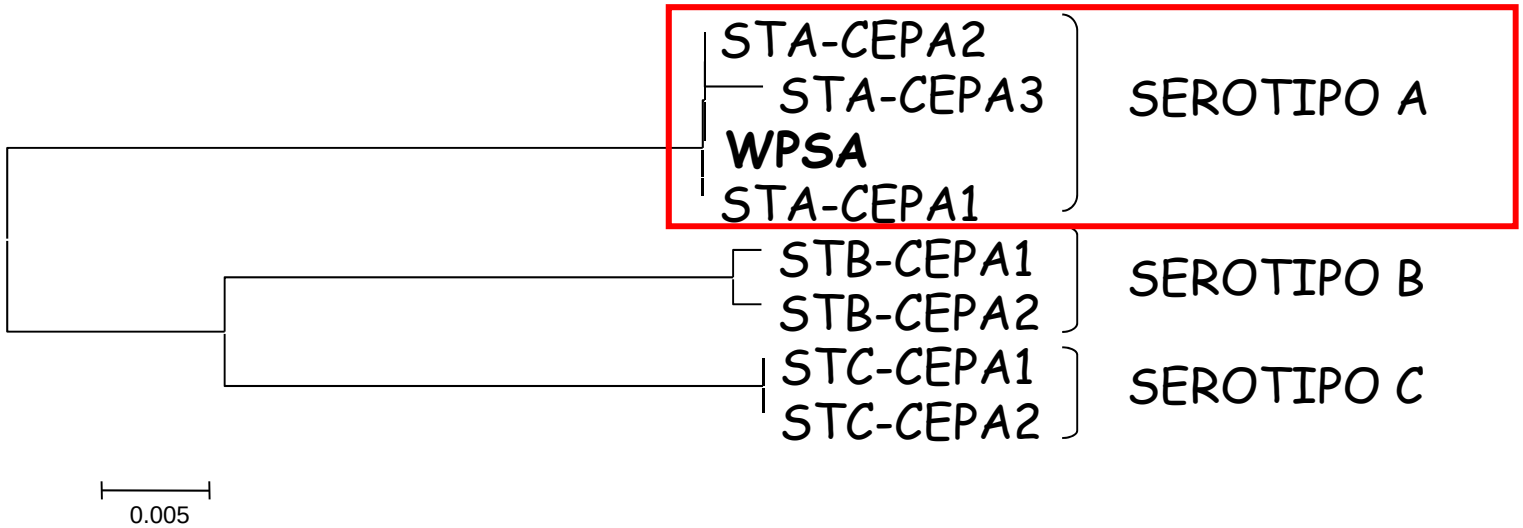
CATTTACATGGAGGC

C
CA
CAT
CATT
CATTT
CATTTA
CATTTAC
CATTTACA
CATTTACAT
CATTTACATG
CATTTACATGG
CATTTACATGGA
CATTTACATGGAG
CATTTACATGGAGG
CATTTACATGGAGGC

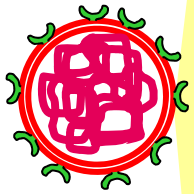


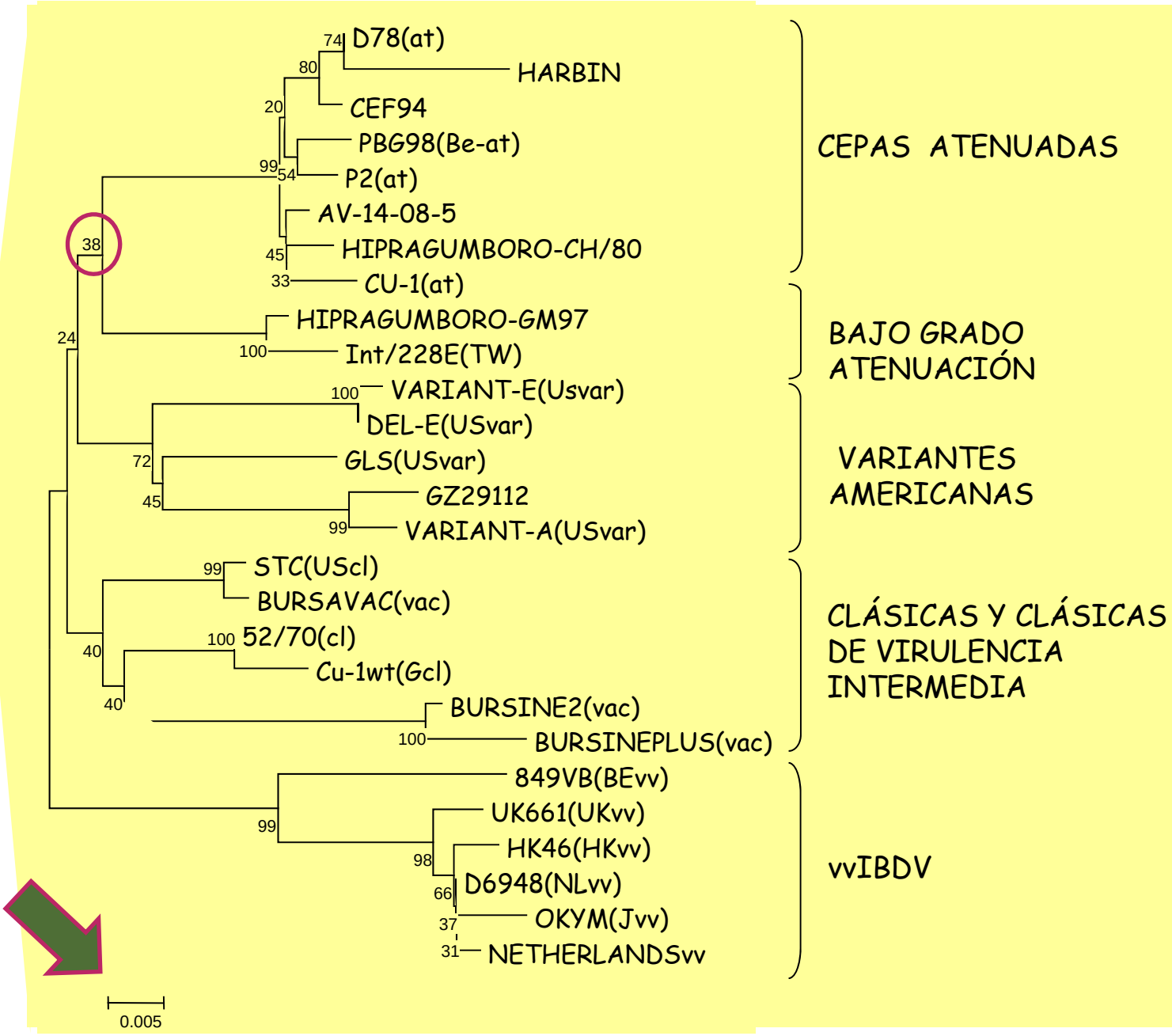
ANÁLISIS DE SECUENCIAS

WPSA	C	A	T	T	T	A	C	A	T	G	G	A	G	G	C
STA- CEPA 1	C	A	T	T	T	A	C	A	T	G	G	A	G	G	C
STA- CEPA 2	C	A	T	T	T	A	C	A	T	G	G	A	G	G	C
STA- CEPA 3	C	A	T	T	T	A	C	A	T	G	G	A	G	A	C
STB- CEPA 1	C	A	T	T	T	A	C	A	A	A	G	A	G	G	C
STB- CEPA 2	C	A	T	T	T	A	C	A	A	A	G	A	G	G	C
STC- CEPA 1	C	A	T	C	C	A	C	A	T	G	G	A	G	G	C
STC- CEPA 2	C	A	T	C	C	A	C	A	T	G	G	A	G	G	C



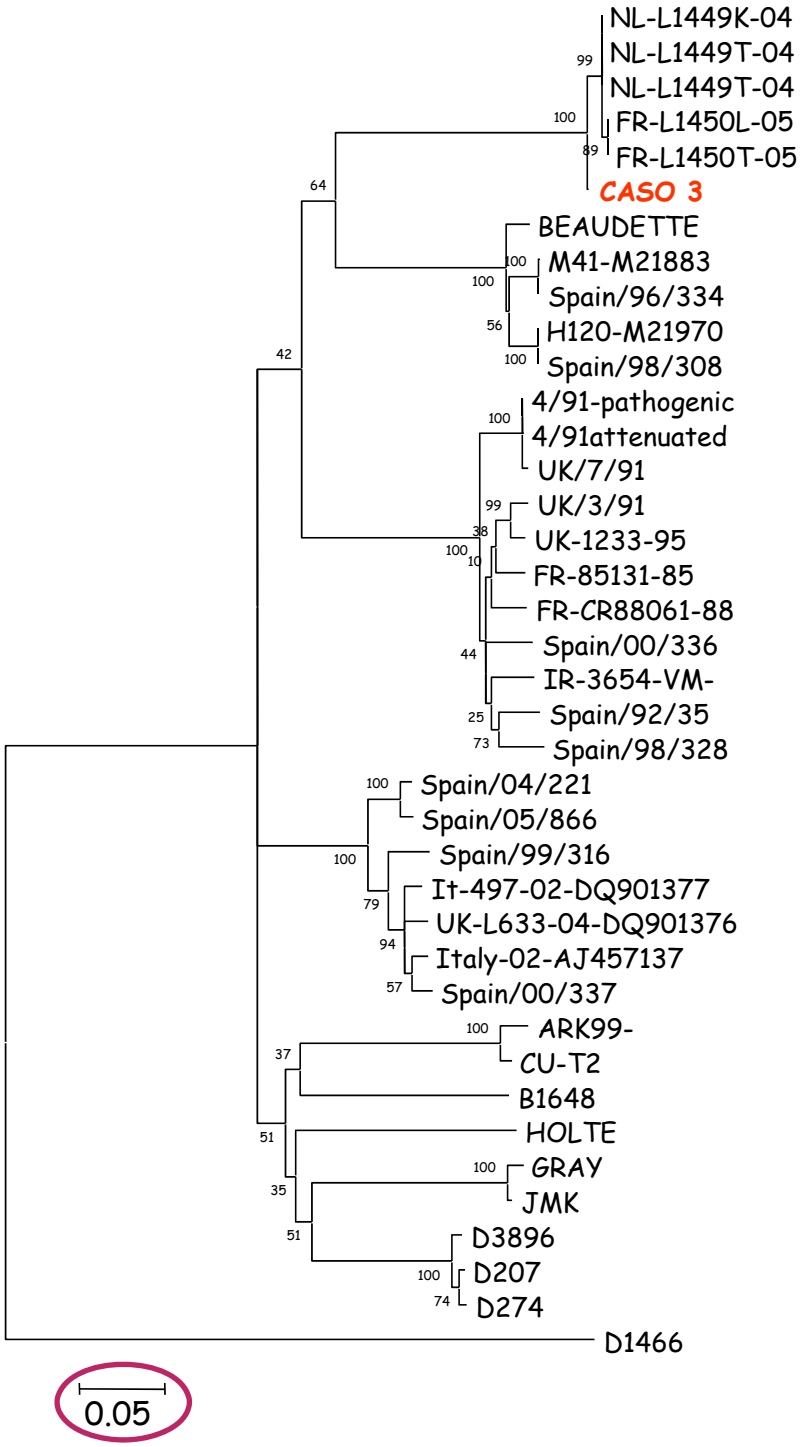
ÁRBOL FILOGENÉTICO





Escala de distancia genética

Cambios nucleotídicos/posición



VENTAJAS

- Máxima precisión en la caracterización
- Relativa rapidez (comparación con métodos clásicos de tipificación)
- Comparación con cepas de todo el mundo y detección de cepas nuevas.

INCONVENIENTES

- Coste
- Análisis de resultados es costosa y complejo
- No aplicable de forma sencilla a organismos más complejos (bacterias o virus de genomas complejos)

¿CUÁNDO SON TÉCNICAS DE ELECCIÓN?

Detección y estudio del material genético organismos

No es necesario aislar el microorganismo para su detección

Se puede estimar un carácter fenotípico (virulencia, serotipo) a partir del genotipo

Microorganismos de aislamiento difícil o lento

Virus

Mycoplasma

Microorganismos que requieran una clasificación

IA – HPAIV/LPAIV

IBV, FAdV, TRT – Serotipo

IBDV – Virulencia

¿CUÁNDO SE DEBEN TOMAR LAS MUESTRAS?

Detección y estudio del material genético organismos

En aquellas fases de la enfermedad en que el agente causal esté presente en las aves/tejidos

INFECCIÓN AGUDA

Muestreo temprano en la fase aguda de la enfermedad (presencia de signos clínicos)

INFECCIÓN CRÓNICA

Muestreo se puede retrasar en el tiempo, dado que el agente causal estará durante más tiempo infectando el ave

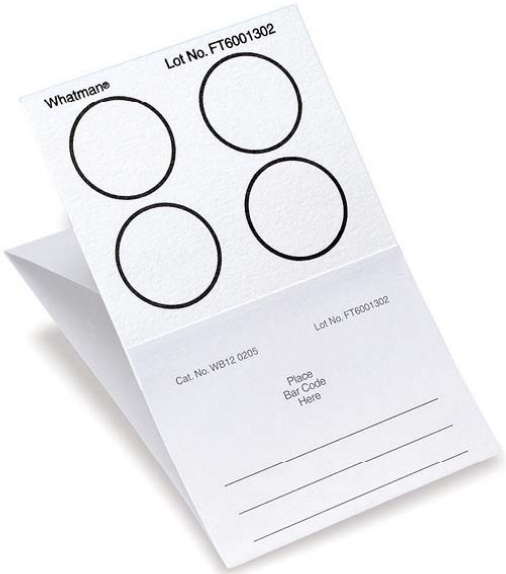
¿QUÉ MUESTRAS SE DEBEN TOMAR Y CÓMO SE DEBEN CONSERVAR?

Se deben tomar muestras de los tejidos u órganos diana donde el agente causal se replique o cree persistencia

1.- Tejido diana

2.- Hisopo sin medio de transporte

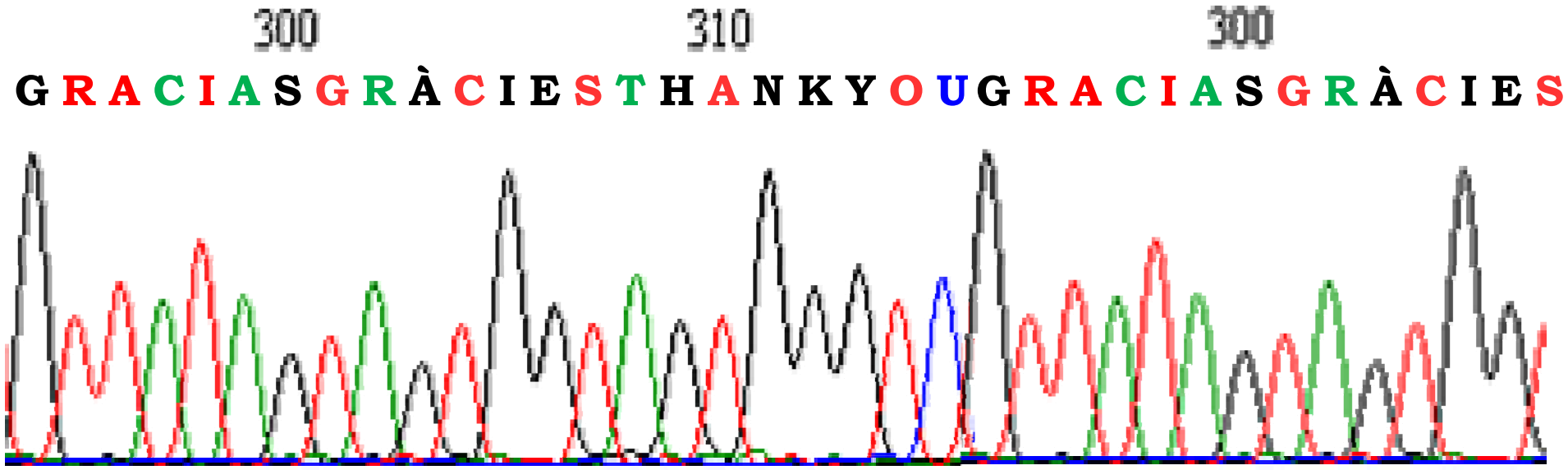
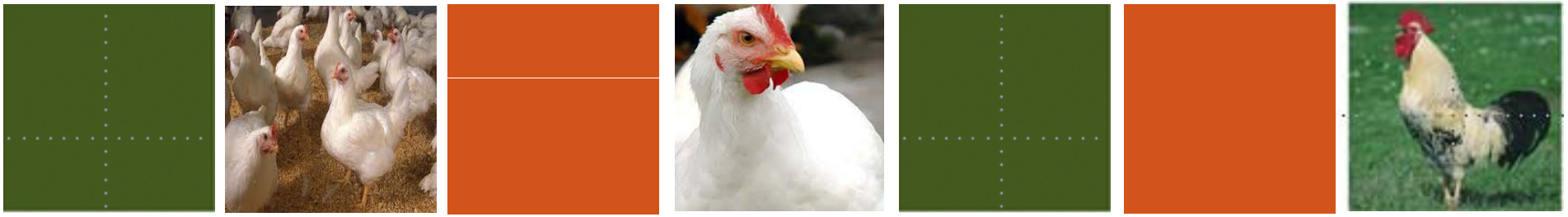
3.- Tarjetas FTA
(inactivación del organismo)



- Refrigeración/Congelación
- Selección adecuada de la muestra
- Orientar sospecha
- Historia clínica (vacunaciones)

SEROLOGÍA

FACULTAD DE VETERINARIA
Universidad CEU

ASOCIACIÓN ESPAÑOLA DE CIENCIA AVÍCOLA
Sección Española de WPSA
www.wpsa-aeca.es
education organization research

LI SIMPOSIO CIENTÍFICO DE AVICULTURA