



Universidad Autónoma del Estado de México
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Boletín Informativo

Nueva Época

Año 9 No. 3



Logotipo del 34 aniversario de la Facultad de Medicina Veterinaria Zootecnia UAEM.

Septiembre 2006

Costo de recuperación \$5.00



DIRECTORIO

M. en S.P. Jaime Jaramillo Paniagua
Director

MVZ Celestino Gallego Vargas
Subdirector Académico

MVZ Luis Roberto García Winder
Subdirector Administrativo

COMITÉ EDITORIAL

LIA Zahid Guerrero Sandoval
Coordinador de Difusión Cultural

M. en C. Félix Salazar García
Coordinador de Posgrado

Dr. Simón Martínez Castañeda
Profesor Investigador CIESA

Dr. Manuel González Ronquillo
Jefe del Departamento de Bromatología

M. en C. Ernesto Benítez Ramírez
Profesor de Asignatura FMVZ

M. en C. Raúl Fajardo Muñoz
Profesor Investigador CIESA

MVZ Eduardo Nava Nava
Jefe del Departamento de Computación e
Informática

EDICIÓN Y DISEÑO

LIA Zahid Guerrero Sandoval
Coordinador de Difusión Cultural

Oficinas de Edición: Coordinación de Difusión
Cultural de la FMVZ.

Publicación trimestral. Tiraje 200 ejemplares.
Toda reproducción total o parcial del material
impreso de esta revista requiere autorización por
escrito del Comité Editorial. El contenido de
cada artículo es responsabilidad de su autor.

Boletín Informativo de La Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia Nueva Época Contenido

EDITORIAL	1
LA DIRECCIÓN INFORMA	2
LA FACULTAD INFORMA Retablo Mural Coordinación de Difusión Cultural.....	4
ARTICULOS CIENTIFICOS Transferencia y validación de PCR para la identificación de <i>Avibacterium paragallinarum</i> Soriano VE	5
Maduración y Activación Partenogénica <i>in vitro</i> de Ovocitos Bovinos y Porcinos Miranda-Ortiz H.....	8
RT-PCR para la identificación y clonación del gen de la miostatina (mstn) de bovino Gordillo-Herrera M. R.....	13
ARTÍCULOS DE DIFUSIÓN Infección viral H5N1 de influenza aviar en félidos Edgardo Soriano V. y Celene Salgado-Miranda.....	17
Control reproductivo de perros por métodos químicos Dr. Luis S. Pérez Sotelo.....	23
La inocuidad alimentaria ¿qué estamos haciendo? Talavera R.M., Valladares C.B., Velázquez O.V., Gutiérrez C.A., Lagunas B.S.....	28
CASOS CLÍNICOS Tumor Venero Transmisible: Reporte de caso en un perro Aguilar, S.R., Castro, C. G., Delgado, Z. C., Hilario, R. G., Martínez. SP. F. Montes de Oca. J. R.	32
Parasitosis Canina: Reporte de necropsia Barradas S. D. A, Becerril. M. L., González. R. G., Martínez. H. H. M. Montes de Oca, J.R.	34
APUNTES Productos ovinos MVZ. EPO. Jorge Osorio Avalos.....	36
La Visión Empresarial en la Clínica Veterinaria de Pequeñas Especies ¿Cuestión de Paradigmas? MDOH Antonio Eduardo Gómez Díaz	43
Osteopetrosis MVZ. Esp. Sandra Díaz González Vieyra	45
TU ESPACIO PubMed: la fuente bibliográfica más importante en Medicina Veterinaria y Zootecnia Edgardo Soriano V. y Celene Salgado-Miranda	48
XV Congreso Nacional de Patología Veterinaria 2006 en la Ciudad de Zacatecas, México: Reseña del Evento MSc. Raúl C. Fajardo Muñoz, M. en C. Valente Velásquez Ordóñez	54

TRANSFERENCIA Y VALIDACIÓN DE PCR PARA LA IDENTIFICACIÓN DE *Avibacterium paragallinarum*

Soriano VE¹, Morales V¹, Martínez JS¹, Vázquez-Chagoyán JC¹, Salgado-Miranda C¹, Blackall PJ²

¹Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal, FMVZ-UAEM

²Animal Research Institute, DPIF, Australia
soriano@uaemex.mx

La bacteria *Avibacterium paragallinarum* es el agente causal de la coriza infecciosa. Esta enfermedad se caracteriza por estornudo, descarga nasal e inflamación facial en pollos y gallinas. El impacto en avicultura puede ser considerable debido principalmente a disminución en la producción de huevo y pérdida de peso (Soriano y Terzolo, 2004b).

El diagnóstico de la enfermedad se basa en el cuadro respiratorio observado en las aves, que generalmente es de curso agudo. La coriza infecciosa debe ser diferenciada de cualquier condición que afecte el tracto respiratorio superior de las aves. Incluso debe ser diferenciada de afecciones hepáticas que originan edema pulmonar, produciendo estertor traqueal o bronquial, y que muchas veces se confunde con un cuadro respiratorio de origen infeccioso. Otras bacterias que producen cuadros corizoides en las aves son: *Bordetella avium* y *Ornithobacterium rhinotracheale*, entre otras (Soriano y Terzolo, 2004a).

La infección por *Av. paragallinarum* en las aves se establece mediante el aislamiento bacteriológico. En el laboratorio de diagnóstico se realiza la eutanasia de 1 a 5 aves remitidas, preferentemente en la fase aguda, y la muestra se obtiene a partir de senos infraorbitarios. Inmediatamente, la muestra se siembra en placas de base de agar con 10% de sangre de ovino y se incluye una estría de *Staphylococcus* spp como donador de dinucleótido de adenina nicotinamida (NAD). Los cultivos son incubados a 37° C hasta por 24 horas. Las colonias de *Av. paragallinarum* aparecen como gotas de rocío pequeñas en satelitismo a la colonia nodriza. Las colonias de la bacteria simbiótica *Av. avium* son similares a las de *Av. paragallinarum*, pero se diferencian en la actividad de catalasa, negativa para *Av. paragallinarum*. El aislamiento bacteriológico se puede ver afectado por el curso de la enfermedad (en etapas crónicas, coinfección con bacterias de rápido crecimiento, por ejemplo: *Escherichia coli*) y por el tratamiento antimicrobiano instaurado (*Av. paragallinarum* es sensible a varios antimicrobianos y en muchas ocasiones se remiten aves medicadas para diagnóstico) (Soriano y Terzolo, 2004a).

En el presente trabajo se informa de la transferencia y validación de un protocolo de PCR para la identificación de *Av. paragallinarum*.

Material y Método

Bacterias. Se incluyeron nueve cepas de referencia de *Av. paragallinarum*, pertenecientes a diferentes serovares y aisladas originalmente en diversos países (cuadro 1). También se incluyeron cepas de referencia de *Ornithobacterium rhinotracheale* y *Bordetella avium*. Todos estos microorganismos proceden del cepario del *Department of Primary Industries and Fisheries, Animal Research Institute*, Australia. También se incluyeron cepas de referencia de *Gallibacterium anatis* y *Pasteurella multocida* (X-73), donadas por el Dr. Henrik Christensen, KVL, Dinamarca, y el Dr. Erasmo Negrete-Abascal, FES-Iztacala, México, respectivamente.

Preparación de DNA. Para la extracción de DNA se emplearon tres procedimientos: 1) ebullición (Soriano *et al.*, 2004); 2) detergentes (Christensen *et al.*, 2003) y alcoholes (Genomic DNA Purification Kit®, Fermentas™).

Condiciones del PCR. El volumen total de reacción fue de 50 µl e incluyó 2 µl de ADN extraído, 0.4 µM de cada iniciador (N1, 5'-TGAGGGTAGTCTTGACGCGAAT-3' y R1, 5'-CAAGGTATCGATCGTCTCTACT-3') y 45 µl de AccuPrime SuperMix I (1.25 U, Taq polimerasa) (Invitrogen®), bajo las siguientes condiciones: desnaturalización inicial por 30 segundos a 98° C; 25 ciclos: desnaturalización, 1 minuto a 94° C, alineación, 1 minuto a 72° C y extensión, 2 minutos a 72° C. Extensión final, 10 minutos a 72° C (Chen *et al.*, 1996).

Visualización. Los productos amplificados fueron determinados por electroforesis en gel al 1% de agarosa en buffer TBE con bromuro de etidio (0.5 µg/ml) a 80 V por 1 hora. Los amplicones fueron visualizados y fotografiados bajo luz ultravioleta (Soriano *et al.*, 2004).

RESULTADOS

Las muestras de DNA de *Av. paragallinarum* obtenidas por los tres procedimientos realizados, resultaron en la amplificación de un fragmento de aproximadamente 500 bp (datos no mostrados). Se obtuvo la amplificación de un fragmento de aproximadamente 500 pb a partir de las muestras de ADN de *Av. paragallinarum*, pero no partir de *P. multocida*, *G. anatis*, *Av. gallinarum* u *Ornithobacterium rhinotracheale* (figura 1).

DISCUSIÓN

El resultado del fragmento amplificado de 500 pb a partir del DNA de *Av. paragallinarum*, es similar al informado originalmente por Chen *et al.* (1996). La especificidad de los iniciadores empleados se validó al incluir DNA de otras bacterias patógenicas en las aves. Otros estudios han obtenido resultados similares (Chen *et al.*, 1998b; Christensen *et al.*, 2003).

Este protocolo de PCR para la identificación de *Av. paragallinarum* ha sido transferido a China (Chen *et al.*, 1998a), Dinamarca (Christensen *et al.*, 2003) y Sudáfrica (Taole *et al.*, 2002), entre otros países.

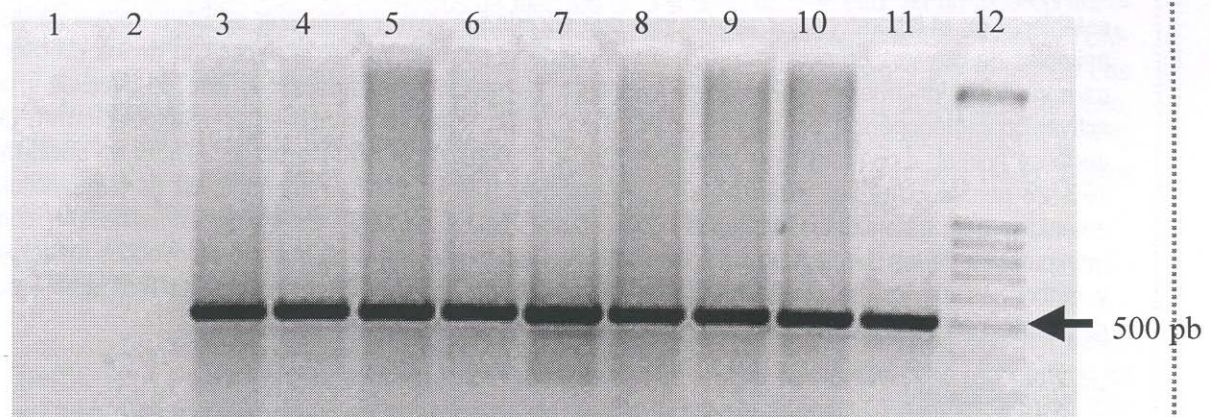
Los resultados obtenidos en el presente estudio, confirman la validez del protocolo de PCR desarrollado por Chen *et al.* (1996) para la identificación de *Av. paragallinarum*. Asimismo, estos resultados muestran la transferencia exitosa al CIESA-FMVZ-UAEM.

BIBLIOGRAFÍA

- Chen X, Chen Q, Zhang P, Feng W, Blackall PJ (1998a). Evaluation of a PCR test for the detection of *Haemophilus paragallinarum* in China. *Avian Pathology*, vol. 27, pp. 296-300.
- Chen X, Mifflin JK, Zhang P, Blackall PJ (1996). Development and application of DNA probes and PCR tests for *Haemophilus paragallinarum*. *Avian Diseases*, vol. 40, pp. 398-407.
- Chen X, Song C, Gong Y, Blackall PJ (1998b). Further studies on the use of a polymerase chain reaction test for the diagnosis of infectious coryza. *Avian Pathology*, vol. 27, pp. 618-624.
- Christensen H, Bisgaard M, Larsen J, Olsen JE (2003). PCR-detection of *Haemophilus paragallinarum*, *Haemophilus somnus*, *Mannheimia (Pasteurella) hemolytica*, *Mannheimia* spp., *Pasteurella trehalosi*, and *Pasteurella multocida*. *Methods in Molecular Biology*, vol. 216, pp. 257-274.

- Soriano VE, Téllez G, Hargis BM, Newberry L, Salgado-Miranda C, Vázquez JC (2004). Typing of *Haemophilus paragallinarum* strains by using enterobacterial repetitive intergenic consensus-based polymerase chain reaction. *Avian Diseases*, vol. 48, pp. 890-895.
- Soriano VE, Terzolo HR (2004a). Epizootiología, prevención y control de la coriza infecciosa. *Veterinaria México*, vol. 35, 261-279.
- Soriano VE, Terzolo HR (2004b). *Haemophilus paragallinarum*: etiología de la coriza infecciosa. *Veterinaria México*, vol. 35, pp. 245-259.
- Taole M, Albertyn J, Van Heerden E, Bragg RR (2002). Virulence of South African isolates of *Haemophilus paragallinarum*. Part 3: experimental produced NAD-independent isolate. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, vol. 69, pp. 189-196.

Figura 1. Validación de PCR. Carril 1, *Gallibacterium anatis*; carril 2, *Pasteurella multocida*; carriles 3 a 11, cepas de referencia de *Avibacterium paragallinarum*, serovares A-1 a C-4; carril 12, marcador molecular, 1 kb.



Cuadro 1. Designación, serovar y procedencia de las cepas de referencia de *Av. paragallinarum* incluidas en el estudio.

Cepa	Serovar	País
221	A-1	Japón
2403	A-2	Alemania
E-3C	A-3	Brasil
HP14	A-4	Australia
2671	B-1	Alemania
H-18	C-1	Japón
Modesto	C-2	E. U. A.
SA-3	C-3	Sudáfrica
HP60	C-4	Australia