

NOVEDADES EN BIOLOGÍA MOLECULAR PCR

El diagnóstico molecular a través de PCR (Reacción de la cadena Polimerasa) ha revolucionado la forma en la que veterinarios, biólogos, investigadores, zoos, laboratorios y otras instalaciones para el cuidado de los animales realizan sus diagnósticos. La sensibilidad, especificidad, y rapidez con la que los patógenos son identificados a través de PCR permiten un diagnóstico, investigación y monitorización que son imposibles e impensables con otras técnicas.

Las técnicas moleculares suponen una excelente y efectiva herramienta para el diagnóstico y la detección de agentes etiológicos o potencialmente peligrosos.

MÁS DE 150 PATÓGENOS, TODOS CUANTIFICADOS

Hemos aumentado la sensibilidad y especificidad de nuestra técnica PCR a tiempo real (q-PCR) y ofrecemos la cuantificación de todos los patógenos analizados. La cuantificación te permite realizar un diagnóstico y seguimiento preciso de la patología.

Hemos optimizado el procedimiento de extracción del material genético de la muestra, siendo necesaria menos cantidad. También hemos simplificado las matrices, seleccionando las más adecuadas al patógeno a analizar.

Más de 150 patógenos de pequeños animales, exóticos y équidos disponibles. Nuevos perfiles

ANEXOS DE INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Disponemos de dossier de apoyo para la interpretación de resultados.

Basados en las más recientes publicaciones y estudios propios, estos anexos te permiten catalogar el estadio de la enfermedad en función de la carga genética detectada del patógeno. Esto es especialmente importante en Ehrlichia spp., Moquillo canino, Leishmania infantum y Leucemia felina.

NUEVA PRUEBA ULTRASENSIBLE DE LEISHMANIA

La PCR a tiempo real, es la única técnica que es tan específica y con una sensibilidad tan elevada que nos ofrece la posibilidad de detectar la presencia de la infección antes de que se haya producido una respuesta inmune humoral (anticuerpos) que es la causante en la mayor parte de las ocasiones de las diferentes lesiones. Todas las técnicas de diagnóstico basadas en la serología (ELISA; IFI, DAT etc...) son útiles para determinar la presencia de anticuerpos específicos, sin embargo el 80% de los animales seropositivos ya presentan enfermedad clínica.

Nuestra nueva prueba ultrasensible te permite detectar en SANGRE hasta 0,01 amastigotes/ml.

En cada análisis PCR de Leishmania utilizamos dos técnicas: SYBER GREEN I y sonda TAQMAN.

La combinación de ambas técnicas es más sensible que la empleada por los laboratorios de diagnóstico que emplean únicamente sondas Taqman, lo que permite detectar de una manera más precoz animales infectados antes de que presenten un cuadro sintomático o lesional, ventaja descrita en estudios comparativos entre diferentes técnicas diagnósticas. (Risueño et al., 2012).

La leishmaniosis es, en general, una enfermedad de curso lento y crónico que puede ser controlada por los diferentes tratamientos terapéuticos existentes.

La clave es determinar el punto crítico en el que una infección (latente) pasa a ser un inicio de proceso patológico (enfermedad, infección activa).

Por tanto, un diagnóstico precoz de la infección de este parásito y la cuantificación de su concentración en sangre, DNA específico circulante de L. infantum (kinetoplastos), puede ofrecer una alternativa adecuada para la monitorización de la infección y evaluación del tratamiento, además de ayudar al veterinario a prevenir y controlar la evolución de la infección hacia la enfermedad. **Pídenos más información.**

LA TÉCNICA PCR

Esta técnica permite amplificar de manera selectiva fragmentos del ADN de un determinado microorganismo, situados entre dos regiones cuyas secuencias son conocidas. Estas dos regiones se utilizan como iniciadores en la reacción de síntesis del ADN, que está catalizada por la enzima ADN polimerasa. La reacción de PCR consta de varios ciclos de amplificación sucesivos, cada uno de los cuales incluye tres fases: desnaturalización, hibridación y elongación. Tras la serie de ciclos, el resultado que se obtiene es la amplificación exponencial del fragmento de ADN seleccionado.

En los diagnósticos por PCR, el ácido nucleico -ADN o ARN- son aislados de la muestra, y posteriormente amplificados (en el caso del ARN con un paso previo de transcripción) utilizando "primers" complementarios específicos para obtener las secuencias del patógeno objeto del ensayo. Las referencias y controles se realizan simultáneamente (los controles internos monitorizan la extracción y la eficiencia de la PCR). Las secuencias amplificadas se visualizan y se graban según los protocolos y la instrumentación.

Nuestros análisis se basan en la PCR a tiempo real (q-PCR), y en ellos se introducen 2 pares de cebadores de los cuales uno de cada pareja, estará ligado a una estructura fluorescente que solamente responde a la excitación cuando el cebador este formando parte del amplicon, resultado de cada ciclo de la amplificación. En cada pocillo de los test, se detectan dos regiones del DNA deseado, de un mismo o de otro organismo.

VENTAJAS DE LA TÉCNICA PCR

1. Especificidad: La especificidad de la reacción de PCR está condicionada por el carácter restrictivo del fragmento de ADN a amplificar entre las estirpes de una misma especie, entre las especies de un mismo género y entre un grupo de microorganismos filogenéticamente relacionados (Woo et al., 2008).

En resumen, las reacciones de PCR pueden diseñarse para la amplificación de fragmentos de genes basados en caracteres genéticos (la existencia de un transposón, ARN ribosómico), bioquímicos (una enzima del metabolismo), o factores de patogenicidad (hemolisinas, fimbrias etc...)

2. Sensibilidad: Una de las ventajas de la PCR es que tanto la cantidad como la calidad del ADN a amplificar, no necesitan ser muy altas. El ADN extraído a partir de una única célula, puede ser suficiente para una buena reacción de amplificación.

Las ventajas del diagnóstico por PCR frente a otros métodos diagnósticos son:

1. En muchos test serológicos las reacciones cruzadas reducen la especificidad; un resultado positivo puede estar causado por otro organismo en lugar del buscado. Los ensayos moleculares, por otro lado, son altamente específicos debido a que detectan la secuencia genética única del patógeno buscado. Incluso se pueden distinguir variedades de patógenos de la misma especie.
2. La influencia de falsos positivos son reducidas en los test moleculares, debido a que mientras otros métodos detectan los anticuerpos que inducen los patógenos y que pueden no estar presentes, el diagnóstico molecular detecta el material genético del propio patógeno, lo que demuestra claramente la presencia del patógeno en la muestra.

Las infecciones latentes o tempranas pueden ser detectadas por PCR antes de que los síntomas de la enfermedad sean apreciables ya que la detección no depende de los niveles de anticuerpos.

La PCR a tiempo Real permite, por ejemplo:

- Identificación del patógeno específico que causa la patología.
- Selección del tratamiento más apropiado y realización de un seguimiento preciso del paciente.
- Acortar el tiempo necesario para confirmar el diagnóstico clínico.
- Detección temprana de la infección de los patógenos.