

Tesis y seminarios

Trabajos Fin de Máster



Diseño de un protocolo de PCR-HRM para el diagnóstico de las dos variantes del Adenovirus canino tipo I en la población de los lobos de Asturias

Autor: Iris Domingo Alonso

Año: 2021

Tutores: Dr. Luis José Royo Martín (SERIDA), Dra. Ana Belén Soldado Cabezueto (Universidad de Oviedo)

Lugar de presentación: Universidad de Oviedo

El Adenovirus Canino tipo I (CAV-1), responsable de la Hepatitis Canina Infecciosa (HIC). La prevalencia de este virus en los animales domésticos ha disminuido gracias a la vacunación. Recientemente se ha descrito como una causa de muerte en poblaciones en peligro de extinción como por ejemplo el oso pardo cantábrico (*Ursus arctos arctos*), por lo que resulta interesante estudiar la presencia de este virus en otros carnívoros silvestres como el lobo,

y conocer si pueden estar actuando como reservorios del virus. Un muestreo en las poblaciones de lobos en la región ha permitido identificar una mutación de una base en la secuencia nucleotídica del CAdV-I.

Atendiendo a estas consideraciones, en este Trabajo Fin de Máster, se ha desarrollado un protocolo de PCR-HRM (*Polimerase Chain Reaction - High Resolution Melting*) con el objetivo de ser capaces de diagnosticar las dos variantes del CAdV-1 en muestras de ADN extraído del bazo de diferentes lobos de la región. Para ello se desarrollaron diferentes protocolos a partir del diseño de cebadores específicos para el segmento de la secuencia en la que se encuentra la mutación.

El protocolo de PCR-HRM desarrollado se aplicó al análisis de veinte lobos positivos a CAdV-I, encontrándose dos animales portadores de la mutación. Ambas muestras procedían de lobos de la misma localidad, aunque obtenidas en años diferentes, por lo que se puede suponer que el virus portador de la mutación está activo y se transmite, al menos, entre los animales de la zona.

Con el objetivo de validar los resultados obtenidos mediante PCR-HRM, se realizó la secuenciación de las muestras, confirmándose así que los resultados obtenidos con la metodología propuesta eran satisfactorios. Por tanto, aunque la secuenciación es la técnica de referencia, nuestro protocolo de PCR-HRM se propone para utilizarlo en próximos estudios epidemiológicos del virus CAdV-I en la Cordillera Cantábrica.

Agradecimientos: NySA-SERIDA; Dirección General de Medio Natural y Planificación Rural del Principado de Asturias (Protocolo Investigación

conjunta en el ámbito de la Sanidad Animal y la Conservación de los Recursos Naturales en el Principado de Asturias).