

DETECCIÓN DE *Mycobacterium bovis* EN LECHE CAPRINA POR LA REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA: EVALUACIÓN DE DOS SECUENCIAS BLANCO

Rocha RV¹, Macías AF², Magnano GG², Sticotti EE², Mació MN², Schneider MO², Garro C³, Bigi F¹, Eirin ME¹, Zumárraga MJ¹

¹Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (INTA-CONICET), Hurlingham, Buenos Aires, Argentina. ²Departamento de Patología Animal, Universidad Nacional de Río Cuarto. Facultad de Agronomía y Veterinaria, Río Cuarto, Córdoba, Argentina. ³Instituto de Patobiología Veterinaria, (INTA-CONICET), Hurlingham, Buenos Aires, Argentina.

INTRODUCCIÓN

El complejo *Mycobacterium tuberculosis* (CMT) incluye especies de micobacterias patógenas que producen tuberculosis (TB) en distintos hospedadores. En el ganado caprino la tuberculosis es causada principalmente por *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*) y *Mycobacterium caprae* (*M. caprae*), aunque este último no fue descrito en Argentina hasta el momento. La infección por *M. bovis* en cabras es menos frecuente que en el bovino, siendo su prevalencia variable según el año y la región en estudio (0,67-7,3%). La lucha contra la TB está basada en su detección y control, requiriéndose de técnicas de diagnóstico rápidas, sensibles y específicas. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR), permite identificar la presencia de micobacterias del CMT como lo son *M. bovis* y *M. caprae* en distintos tipos de muestras como la leche.

OBJETIVO

Evaluar dos secuencias blanco para detectar especies incluidas en el CMT en leche caprina por PCR de punto final.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se estudiaron 24 muestras de leche fluida caprina de animales reaccionantes a la prueba tuberculínica. Esas cabras fueron faenadas, cultivados sus órganos y su leche, y los aislamientos obtenidos fueron tipificados por *spoligotyping*. Se extrajo ADN a partir de leche fluida mediante el método de solventes orgánicos (f:c:i) que luego se empleó como templado para la reacción de PCR *Touch-Down*, en la que se amplificaron las secuencias IS6110 y Rv2807.

RESULTADOS

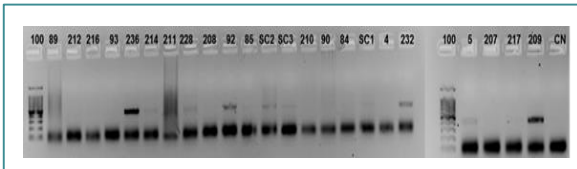


Figura 1: Amplificación por PCR de la secuencia Rv2807 en reaccionantes a la prueba intradérmica. Se observan productos de 443 pb. CN: control negativo (agua), MPM (marcador de peso molecular de 100 pb).



Figura 2: Amplificación por PCR de la secuencia IS6110 en reaccionantes a la prueba intradérmica. Se observan productos de 245 pb. CN: control negativo (agua), MPM (marcador de peso molecular de 100 pb).



PCR en leche IS6110 Rv2807	Presencia de LCT	Cultivo de tejidos	Total
Positivo	Positivo	Positivo	5
Positivo	Negativo	Positivo	1
Positivo	Negativo	Negativo	2
Positivo	Positivo	Negativo	3
Negativo	Positivo	Positivo	11
Negativo	Positivo	Negativo	1
Negativo	Negativo	Negativo	1
			24

PCR-IS6110 y PCR-Rv2807:

VPP: 54,5; VPN: 82,2

Sensibilidad: 42,9; Especificidad: 88,1.

(Se consideró el cultivo como prueba de oro).

En todos los casos se obtuvo el spoligotipo SB0140, el más frecuente de las muestras analizadas de Argentina.

CONCLUSIONES

En este trabajo se demostró la concordancia entre los resultados de la PCR-IS6110 y PCR-Rv2807, siendo ambas adecuadas para la detección de *M. bovis* en leche caprina, constituyendo una estrategia valiosa que podría complementar a las técnicas oficiales de diagnóstico en la vigilancia epidemiológica a nivel de majada.