

DETECCIÓN DE *MYCOBACTERIUM BOVIS* EN LECHE BOVINA A TRAVÉS DE BACTERIOLOGÍA Y PCR

Tomazic ML¹, Celi AB¹, Garro CJ¹, Garbaccio SG¹.

¹ Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria - Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (UEDD INTA-CONICET); CICVyA, Instituto de Patobiología Veterinaria. Correo electrónico: garbaccio.sergio@inta.gob.ar

La tuberculosis bovina (TB) es una enfermedad infecto-contagiosa de importancia mundial. El agente causal, *Mycobacterium bovis*, además de afectar al ganado tiene implicancias en salud pública al tratarse de una zoonosis. La transmisión de este microorganismo se produce principalmente a través de secreciones nasales y en segundo lugar por medio de la leche. Esta última vía de excreción es considerada intermitente y de baja frecuencia (entre el 0.7% y 10%). El diagnóstico se basa en la prueba intradérmica (IDR) mientras que, a nivel laboratorio, se puede realizar la confirmación diagnóstica a partir del aislamiento y caracterización del agente causal (bacteriología-PCR). A diferencia del diagnóstico bacteriológico convencional, la técnica PCR puede brindar un resultado rápido, disminuyendo significativamente el tiempo necesario para arribar a un resultado (8 semanas versus 48hs). El objetivo de este estudio fue detectar la presencia de *M. bovis* en muestras de leche de bovinos naturalmente infectados mediante bacteriología y PCR. Se analizaron 194 muestras de leche de bovinos positivos a la IDR pertenecientes a un rodeo lechero con TB endémica. El material destinado a bacteriología fue decontaminado y posteriormente sembrado por duplicado en medios de cultivos Stonebrink. Los crecimientos micobacterianos fueron analizados por tinción de Ziehl Neelsen y PCR. Por otro lado, se realizó un análisis de PCR directo de la muestra de leche. Para ello se realizó la extracción de ADN utilizando un kit comercial (*PuriPrep T-Kit, Inbio HighWay*, Argentina) y luego se amplificaron por PCR utilizando cebadores de la secuencia de inserción IS6110, específica del complejo *M. tuberculosis*. El revelado se efectuó por medio de corrida electroforética, utilizando geles de agarosa al 2%. Se obtuvieron resultados positivos a bacteriología en 6 casos, es decir en el 3% (6+/194) del material analizado, de las cuales cuatro muestras dieron positivas también por PCR a partir del cultivo. Por otra parte, se detectaron 56 positivos por medio de PCR, es decir el 29% (56+/194). Estos resultados demuestran una marcada diferencia en la cantidad de muestras positivas obtenidas por PCR en relación a los aislamientos logrados (56 versus 6). El bajo número de aislamientos obtenidos estuvo en consonancia con trabajos previamente publicados sugiriendo que, a través del análisis bacteriológico, podría ser subestimada la eliminación del microorganismo a través de la leche. Estos hallazgos ponen de manifiesto la necesidad de continuar trabajando para la mejora en la detección de *M. bovis* en leche y generar un mayor conocimiento acerca de su excreción y el rol que tiene este fluido biológico en la transmisión de la TB.