

Tuberculosis: nuevas herramientas para resolver un viejo problema

MARTÍN JOSÉ ZUMÁRRAGA

Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular (IABIMO) (INTA-CONICET),
Hurlingham, Buenos Aires, Argentina

zumarraga.martín@inta.gob.ar

La tuberculosis bovina es una enfermedad infectocontagiosa crónica que afecta a los animales de producción, salvajes, silvestres, de compañía e incluso al hombre. Su agente etiológico es *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*), un bacilo ácido-alcohol resistente de crecimiento lento, que integra el complejo *Mycobacterium tuberculosis*. El método de diagnóstico de referencia o prueba de oro es el cultivo, ya que pone en evidencia de manera concluyente al bacilo, pudiendo demorar entre 30 y 60 días para obtener desarrollo. El proceso de descontaminación de la muestra previo a cultivo (método de Petroff) puede inactivar hasta el 90 % de los bacilos viables presentes en la muestra, situación crítica en muestras pausibacilares. A partir del advenimiento de los métodos moleculares en microbiología se ha simplificado tanto el diagnóstico como la tipificación de los microorganismos. Entre los métodos para la detección molecular de *M. bovis* se encuentran la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo final, su variante en tiempo real (qPCR) y la amplificación isotérmica mediada por bucles (LAMP). Estas pueden aplicarse directamente a partir de muestras clínicas (tejidos, leche, hisopados nasales) como así también a partir de un desarrollo bacteriano obtenido por cultivo para identificar la etiología del mismo. Hay que considerar que cada secuencia blanco proporciona una sensibilidad y especificidad diferente. En la qPCR se sigue el curso de

la reacción a medida que avanza en el tiempo, y como la detección de la fluorescencia emitida es proporcional a la cantidad de templado presente en la muestra es posible la cuantificación. Además, tiene la ventaja de constituir un sistema cerrado reduciendo así el riesgo de contaminación. En el caso de LAMP, la principal ventaja es la de no utilizar termociclador ni la de realizar electroforesis una vez finalizada la reacción. La lectura de los resultados es por visualización del cambio de color en el tubo de reacción. Asimismo, al igual que en qPCR, también es un sistema cerrado. Esta es una opción ventajosa para ser implementada en laboratorios de baja complejidad ya que no se requiere de equipamiento costoso. Inicialmente las técnicas de tipificación molecular de *M. bovis* eran complejas e insumían mucho tiempo, como el polimorfismo en tamaño de los fragmentos de restricción (RFLP). La incorporación de métodos basados en la técnica de PCR han simplificado significativamente esta tarea. Entre éstos se encuentran el método de hibridación reversa de Spoligotyping y las repeticiones en tándem en número variable (VNTR). Cada uno de ellos tiene un poder discriminatorio diferente, siendo el primero recomendado para establecer relaciones distantes en el tiempo (estudios poblacionales), mientras que el segundo es indicado para demostrar una transmisión reciente. La información epidemiológica clásica del caso estudiado es fundamental para interpretar y sustentar el resultado obtenido. Por otra parte, las técnicas moleculares no reemplazan a los métodos tradicionales de diagnóstico ya que cada uno evalúa un fenómeno biológico diferente; en el caso de la PCR se detecta el ADN del bacilo y en el cultivo la viabilidad del agente bacteriano. Además el cultivo nos proporcionará la masa bacteriana necesaria para realizar los estudios de tipificación molecular. Otro capítulo lo constituyen las micobacterias no tuberculosas (MNT), ampliamente distribuidas en el medio ambiente, como el agua y suelo. En ciertas circunstancias este grupo de micobacterias pueden

causar enfermedad (micobacteriosis), también pueden interferir con el diagnóstico de tuberculosis o paratuberculosis, y en otros casos son hallazgos obtenidos por cultivo. En este contexto, la identificación y tipificación precisa de MNT es una tarea importante, siendo los métodos moleculares la mejor opción. Entre éstos se encuentran el análisis de los fragmentos de restricción de PCR (PRA) y la secuenciación de génica (*hsp65*; *rpoB*; 16SARNr, etc.) con la subsiguiente comparación en bases de datos. En conclusión, los métodos moleculares de diagnóstico y de tipificación constituyen valiosas herramientas que deben aplicarse complementariamente a los métodos tradicionales y oficiales del Plan Nacional de Control y Erradicación de la Tuberculosis bovina, contribuyendo con la detección rápida y la mejor comprensión de la distribución y diseminación de la enfermedad.

Palabras clave: tuberculosis bovina, *M. bovis*, MNT, diagnóstico molecular, tipificación molecular.