

PAN-160

EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE LAS TÉCNICAS PCR A TIEMPO REAL Y LAMP PARA LA DETECCIÓN DE *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* EN MUESTRAS SINTOMÁTICAS DE ALMENDRO

Palacio-Bielsa, A.¹, López-Soriano, P.², Bühlmann, A.³, van Doorn, J.⁴, Pham, K.⁴, Cambra, M.A.⁵, Berruete, I.M.¹, Collados, R.⁵, Palazón, M.L.⁵, Olmos, A.², López, M.M.²

¹Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón. Av. Montañana 930, 50059 Zaragoza. E-mail: apalaciob@aragon.es.

²Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias. Ctra. de Moncada a Náquera km 4,5, 46113 Moncada, Valencia.

³Agroscope Changins-Wädenswil ACW. Schloss 1, CH-8820 Wädenswil, Suiza.

⁴Wageningen University, Applied Plant Research, Prof. van Slogterenweg 2, 2161 DW, Holanda

⁵Centro de Sanidad y Certificación de Vegetales. Av. Montañana 930, 50059 Zaragoza.

Xanthomonas arboricola pv. *pruni* (*Xap*) es una bacteria de cuarentena en la Unión Europea causante de la mancha bacteriana de los frutales de hueso y almendro. Recientemente se han desarrollado dos protocolos para la detección de este patógeno, uno de ellos basado en PCR a tiempo real (PCR-tr) (Palacio-Bielsa *et al.*, 2011) y otro en amplificación isoterma *Loop-mediated isothermal amplification* (LAMP) (Bühlmann, com. personal). En este estudio se realizó un ring-test, en el que participaron cuatro laboratorios europeos, para la evaluación de los parámetros diagnósticos asociados a estas dos técnicas en muestras de almendro. Además, se analizaron dos modalidades de preparación del material vegetal empleando muestras directas de lavado de hojas y ADN purificado de los tejidos.

La concordancia interlaboratorios para estas técnicas según el coeficiente kappa (Cohen, 1960) demostró que las muestras procedentes de lavados directos y sus diluciones 1:10 fueron las más reproducibles y coincidentes con valores kappa que variaron de 0,87 a 1,00. Sin embargo las muestras procedentes de los purificados de ADN revelaron una problemática asociada a este procedimiento en un laboratorio, con un rango de kappa que varió desde 0 hasta 1,00. Ésta se solventó para sus diluciones 1:10 y 1:100, con un rango de kappa que varió desde 0,87 a 1,00. Los resultados de las diluciones 1:100 procedentes de lavado de hojas pusieron en evidencia problemas en LAMP, con una concordancia que varió desde 0,47 hasta 0,84.

La sensibilidad estimada en este ring-test para la PCR-tr fue de 98,3% y 89,3%, para lavados y extractos de ADN, respectivamente, y superior a la de LAMP, con valores de 85,9% y 58,0%, respectivamente. La especificidad de PCR-tr fue del 99,4% independientemente del tratamiento de las muestras, y la de LAMP fue del 100% para los lavados y del 99,2% para los extractos de ADN. En base a estos resultados, el protocolo de PCR-tr empleando los lavados de hojas de almendro resultó el más adecuado para la detección precisa y fiable de *Xap* en este ring-test.