

BROMATOLOGÍA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

TUBERCULOSIS BOVINA: DETECCIÓN DE *MYCOBACTERIUM BOVIS* EN ÓRGANOS BOVINOS OBTENIDOS EN CARNICERÍAS BONAERENSES.

MARFIL, Jimena¹; GARBACCIO, Sergio²; HUERTAS, Pablo³; BARANDIARAN, Soledad⁴; MARTINEZ VIVOT, Marcela⁵; ALONSO, Bernardo⁶; EIRIN, María⁷; ZUMARRAGA, Martín⁸.

zumarraga.martin@inta.gob.ar

- 1- Becaria Doctoral CONICET. Instituto de Biotecnología, CICVyA, INTA, Castelar, Buenos Aires. Ayudante de primera de la cátedra de Enfermedades Infecciosas, FCV, UBA.
- 2- Jefe Laboratorio de Tuberculosis. Instituto de Patobiología, CICVyA, INTA, Castelar, Buenos Aires.
- 3- Técnico de Laboratorio de Tuberculosis, Instituto de Patobiología, CICVyA INTA, Castelar.
- 4- Investigador asistente- CONICET. Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA. Buenos Aires. Docente de la cátedra de Enfermedades Infecciosas, FCV, UBA.
- 5- Jefe de la Cátedra de Enfermedades Infecciosas. Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA.
- 6- Coordinación de Bacteriología. SENASA, Martínez, Buenos Aires.
- 7- Investigador asistente- CONICET. Instituto de Biotecnología, CICVyA, INTA, Castelar, Buenos Aires.
- 8- Investigador INTA e Independiente -CONICET- Instituto de Biotecnología, CICVyA, INTA, Castelar, Buenos Aires.

INTRODUCCIÓN

Mycobacterium bovis es el agente etiológico de la tuberculosis en bovinos, enfermedad zoonótica crónica y endémica que conduce a una consunción del animal y posterior muerte. En la Argentina existe un plan de control y erradicación de la tuberculosis bovina (Resol. 128/12 SENASA), que implica la identificación precoz de animales infectados mediante la inoculación intradérmica de PPD bovina y la eliminación de los reaccionantes positivos. La prevalencia estimada por decomisos en frigorífico es de 0,3% (1). Al ser una enfermedad crónica, las lesiones granulomatosas características de la enfermedad llevan tiempo en visualizarse, siendo inicialmente microscópicas y luego con el transcurso del tiempo se hacen macroscópicas con el aspecto típico. Esto hace que el reconocimiento de los animales con tuberculosis en las etapas iniciales de la enfermedad, sea dificultoso. A partir de la casuística de tuberculosis por *M. bovis* en gatos de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires (CABA) (2), y que se acepta que la principal fuente de infección en esas mascotas es la ingesta de pulmón bovino (bofe) crudo, el objetivo de este trabajo fue realizar un muestreo en frigoríficos y carnicerías del conurbano bonaerense y CABA para demostrar la presencia y viabilidad de *M. bovis*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Un total de 210 pulmones y 6 hígados bovinos fueron obtenidos de un frigorífico (137 pulmones) y carnicerías (73 pulmones y 6 hígados) de diferentes zonas del conurbano bonaerense y CABA. Aquellos pulmones obtenidos de frigorífico, se inspeccionaron *in situ* posteriormente a la inspección de rutina, tomándose porciones representativas de zonas con lesiones aparentes y/o de tejido sano y linfonódulos mediastínicos. Los órganos comprados en carnicerías fueron enteros. Se revisaron y se realizaron cortes sagitales y se tomaron muestras representativas. Todos los tejidos fueron cultivados en medio de Stonebrink posterior a su decontaminación por el método de Petroff con NaOH al 4% y cultivados hasta 2 meses a 37°C en estufa (3). Para la identificación de las colonias desarrolladas se suspendieron en 200 µL de agua apirógena estéril y sometidas a lisis térmica por 40 minutos a 95 °C. Se centrifugó y se tomó el sobrenadante para utilizarlo como templado para la detección por PCR de la secuencia de inserción 6110 (4), específica del complejo *Mycobacterium tuberculosis*, con un ciclo de amplificación modificado (5). Los productos de PCR fueron sometidos a electroforesis horizontal en agarosa al 2% con bromuro de etidio y se visualizaron en un transiluminador de luz ultravioleta.

RESULTADOS

Se detectaron lesiones de distinta naturaleza en 27 pulmones y en un hígado. En dos de ellas, en que se confirmó la presencia de *M. bovis* por bacteriología y biología molecular, la lesión no fue evidente y se pudo observar luego de realizados los cortes. Cinco de los cultivos obtenidos fueron positivos a PCR IS6110, proviniendo de distintos lugares de la provincia de Buenos Aires: 1 pulmón de un frigorífico de zona oeste, 1 pulmón de zona norte, 2 pulmones y un hígado de zona sur. El pulmón de frigorífico y el hígado de zona sur fueron los que presentaron las lesiones.

DISCUSIÓN

El aislamiento de *M. bovis* a partir de alimentos obtenidos de carnicerías alertan del riesgo de la transmisión zoonótica de esta enfermedad. El hecho que a simple vista estos pulmones se encontraban en perfecto estado y en dos casos se pudo observar una lesión macroscópica en el parénquima del tejido habla de la eficiencia de los controles visuales que se realizan en la playa de faena, pero que estos son insuficientes por las características de esta infección. A su vez, la inspección interna y minuciosa de tejidos como el hígado no puede realizarse habitualmente porque se comercializa regularmente. Cuando las lesiones son no deformantes y no se presentan en los lugares donde se realiza el corte durante la inspección, pueden pasar inadvertidas y llegar a carnicería. Debido al escaso valor comercial del pulmón bovino, éste es comprado como alimento de gatos y perros especialmente en zonas de escasos recursos. Su administración sin cocción previa incrementa el riesgo de transmisión de la enfermedad a las mascotas y a las personas que manipulan el alimento.

CONCLUSIONES

Se demostró la presencia de *M. bovis* en vísceras comercializadas en carnicerías del conurbano bonaerense. Los resultados obtenidos sugieren la necesidad de reforzar las acciones del Plan en pos de incrementar el control tanto *in vivo* como *post mortem* durante la inspección en frigoríficos, capacitando adecuadamente al personal de vigilancia en playa de faena. Asimismo, es necesario instruir a la población en relación a la administración de vísceras a las mascotas. Se destaca la importancia de incorporar técnicas moleculares en forma complementaria a los métodos bacteriológicos tradicionales, para incrementar la detección e identificación de micobacterias en el diagnóstico *post mortem* confirmatorio de la enfermedad.

BIBLIOGRAFÍA

1- SENASA 2016.

http://www.senasa.gob.ar/sites/default/files/ARBOL_SENASA/ANIMAL/BOVINOS_BUBALINOS/PROD_PRIMARIA/SANIDAD/ENF_Y ESTRAT/TUBERCULOSIS/situacion_tuberculosis_bovina_rep.argentina_2016.pdf

2- Zumárraga M J, Martínez Vivot M, Marticorena D, Bernardelli A, Fasán R, Iachini R, and Cataldi A. 2009. *Mycobacterium bovis* in Argentina: isolates from cats typed by spoligotyping. Rev. Arg. Microbiol. Vol. 41 (4) 215-7.

3- CEPANZO, (1988). Manual de normas técnicas para Bacteriología de la Tuberculosis. 1 La muestra. El examen microscópico. OMS. Nota técnica 26, pp.30.

4- Hermans PW, van Soolingen D, Dale JW, et al. Insertion element IS986 from *Mycobacterium tuberculosis*: a useful tool for diagnosis and epidemiology of tuberculosis. Journal of Clinical Microbiology. 1990; 28 (9):2051-2058.

5- Zumárraga MJ; Meikle V; Bernardelli A; Abdala A; Tarabla H; Romano MI; Cataldi, A. Use of touch-down polymerase chain reaction to enhance the sensitivity of *Mycobacterium bovis* detection. J Vet Diagn Invest. 2005; 17(3):232-8.