

PRODUCCIÓN Y SANIDAD ANIMAL

EVALUACIÓN COMPARATIVA ENTRE rt-PCR CON SYBR GREEN Y rt-PCR CON SONDA TaqMan PARA LA DETECCIÓN DE *BRUCELLA ABORTUS* EN LECHE

VINTIÑI, Elisa^{*1}; MEDINA, Marcela². 1-LARIVENOA- Facultad de Agronomía y Zootecnia, UNT, Tucumán, Argentina; 2-Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, UNT, Tucumán, Argentina. *eovintini14@yahoo.com.ar

INTRODUCCIÓN: La brucelosis es una enfermedad infectocontagiosa producida por diferentes bacterias del género *Brucella* que afecta a distintas especies animales (bovinos, caprinos, cerdos), y al hombre (zoonosis). La brucelosis bovina (1) produce impacto económico negativo en la explotación del ganado vacuno debido a los abortos, a una disminución en la producción de leche y carne y a problemas de fertilidad, que ocasionan pérdidas económicas: kilos de carne y litros de leche. En el hombre, causa una enfermedad febril aguda, “fiebre ondulante”, que puede convertirse en crónica y producir complicaciones graves que afectan músculo esquelético, sistema cardiovascular y sistema nervioso central. Esta enfermedad afecta en primera instancia a las personas vinculadas a la actividad pecuaria y también a personal de frigoríficos y de laboratorios. Se transmite por el contacto con las secreciones del animal, se elimina por la leche, por lo que consumir leche o quesos elaborados con leches sin pasteurizar, constituye un importante riesgo para la población general. En nuestro país, la brucelosis bovina es una enfermedad endémica y se encuentra bajo Plan Nacional de Control y erradicación, tiene un calendario de vacunación obligatorio que es la principal herramienta para combatir la enfermedad, por lo que anualmente se vacunan las terneras de 3 a 6 meses de edad. Los métodos tradicionales para el diagnóstico de esta enfermedad (2) tales como cultivo directo (requiere de laboratorios con alto grado de bioseguridad) y pruebas indirectas como la serología, pueden dar resultados falsos positivos (reacción cruzada) y negativos (bajo nivel de anticuerpos). Es por ello, que es de fundamental importancia la implementación de métodos de detección más sensibles y específicos con la finalidad de implementar un control preventivo para erradicar completamente la enfermedad (3,4). **OBJETIVOS:** a- Evaluar comparativamente la sensibilidad de la técnica de PCR en tiempo real (rt-PCR) con fluorocromo intercalante (SyBR Green) y rt-PCR PCR con sonda TaqMan para la detección de *Brucella abortus* S19 (BaS19) en leche, b) confirmar la utilidad de la técnica mediante la detección de *Brucella abortus* (wild type) en leche.

MATERIALES Y MÉTODOS: Para los ensayos, se utilizó la vacuna S19 de Ba viva liofilizada y una cepa de *Brucella abortus* (wild type). Para establecer el límite de detección de cada una de las técnicas, se hicieron diluciones de la vacuna en leche entera comercial y luego se purificó el DNA mediante kit comercial. **RESULTADOS:** Se optimizaron las condiciones de reacción para la detección específica de Ba tanto por rt-PCR con SyBR Green como por rt-PCR con sonda TaqMan. Se observó que ambos métodos tuvieron la misma sensibilidad, con un límite de detección de hasta 10^2 UFC/ml de Ba en leche entera comercial. **DISCUSIÓN:** Del estudio comparativo entre ambas metodología de rt-PCR, surge que el uso de fluorocromo intercalante constituye una ventaja debido al menor costo de los reactivos involucrados, en comparación al elevado costo de la sonda específica. Teniendo en cuenta que el límite de detección es el mismo con ambas técnicas, el empleo de rt-PCR con SyBR Green resultará más rentable para el productor, favoreciendo un plan estratégico preventivo antes de la adquisición de animales exógenos para su rodeo, con menor costo de detección. **CONCLUSIÓN:** la comparación entre estos dos métodos sensibles de rt-PCR demostró que la técnica con fluorocromo intercalante, SyBr Green, además de ser una metodología eficiente y rápida para la detección de *Brucella abortus* en leche, resulta económicamente más conveniente para su aplicación como técnica de diagnóstico de Ba en rodeos.

- BIBLIOGRAFÍA:** 1- SENASA - Brucelosis bovina (<http://www.senasa.gov.ar/cadena-animal/bovinos-y-bubalinos/produccion-primaria/sanidad-animal/enfermedades-y-estra-sani/brucelosis-bovina>)
- 2- Laboratorio de Referencia de la OIE para Brucellosis. Coordinación General de Laboratorios Animal. OIE-SENASA. 2009.
- 3- Mosquera C, Xiomara, Bernal V, Carmen, Muskus L, Carlos, & Berdugo G, Jesús. Detección de *Brucella abortus* por PCR en muestras de sangre y leche de vacunos. Revista MVZ Córdoba, 2008. 13(3), 1504-1513.
- 4- Sidor Inga F., Lawrence Dunn J., Tsongalis Gregory J., Carlson Jolene, Frasca Salvatore. A multiplex real-time polymerase chain reaction assay with two internal controls for the detection of brucella species in tissues, blood, and feces from marine mammals. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. 2013. 25(1) 72–81.