



IDENTIFICACIÓN DE TUBERCULOSIS BOVINA EN ANIMALES POSITIVOS A LA PRUEBA DE TUBERCULINA MEDIANTE TÉCNICAS BACTERIOLÓGICAS Y MOLECULARES EN REPÚBLICA DOMINICANA

Raysa Reyes¹, Yorkiris Consuegra¹, Lucas Alcantara¹, Juan Araujo¹ Soledad Barandiaran^{2,3}, Jimena Marfil²

1 Instituto de Enfermedades Infecciosas y Zoonóticas (IEIZ) Facultad de Ciencias Agronómicas y Veterinarias (UASD) 2 Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina 3 Concejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina



17 de julio 2024
Punta Cana, Rep. Dominicana

57^o Reunión Anual Sociedad Caribeña de Cultivos Alimenticios (CFCS)

10^o Congreso Sociedad Dominicana de Investigadores Agropecuarios y Forestales



Proyecto:

“Análisis genético poblacional e incidencia de *Mycobacterium bovis* en hospederos y subproductos derivados de bovinos en la República Dominicana”



Financiado:



Código: 2018-2019-2D2-178



Instituciones ejecutantes

- Universidad Autónoma de Santo Domingo



- Facultad de Ciencias Agronómicas y Veterinarias



- Instituto de Enfermedades Infecciosas y Zoonóticas



- Centro de Adiestramiento Lechero (CAL) (UASD)

- Universidad de Buenos Aires (UBA)



- Facultad de Ciencias Veterinarias (UBA)



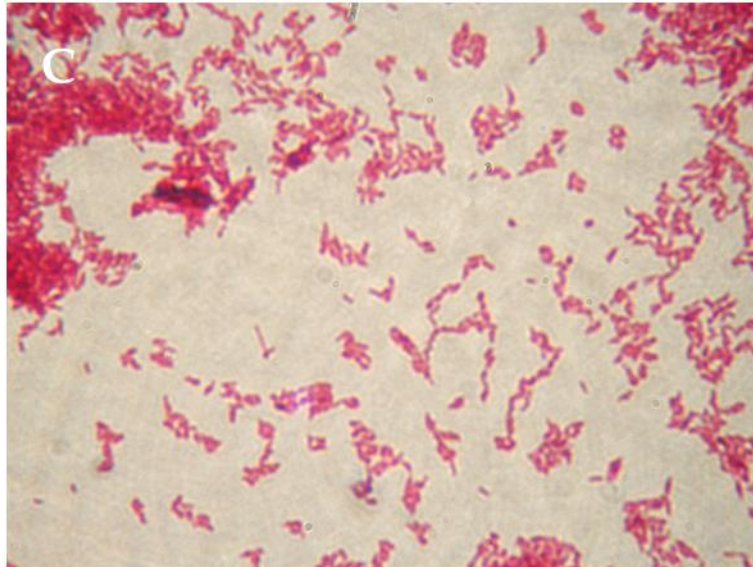
Áreas que impacta esta investigación

- SALUD PÚBLICA
- RECURSOS GENÉTICOS y BIOTECNOLOGÍA
- SEGURIDAD ALIMENTARIA
- PRODUCCIÓN SOSTENIBLE



Introducción

- La tuberculosis bovina (TBb) es una enfermedad bacteriana infecciosa, de curso crónico.
- **Zoonótica**, endémica en 90 países alrededor del mundo (Olea-Popelka et al., 2016).
- La TBb es causada por la bacteria *Mycobacterium bovis*



M. bovis además del bovino afecta muchos otros animales domésticos y salvajes y representa un serio escollo sanitario que impacta la seguridad alimentaria y la economía de las poblaciones afectadas.



Importancia: Impacto en Salud Pública

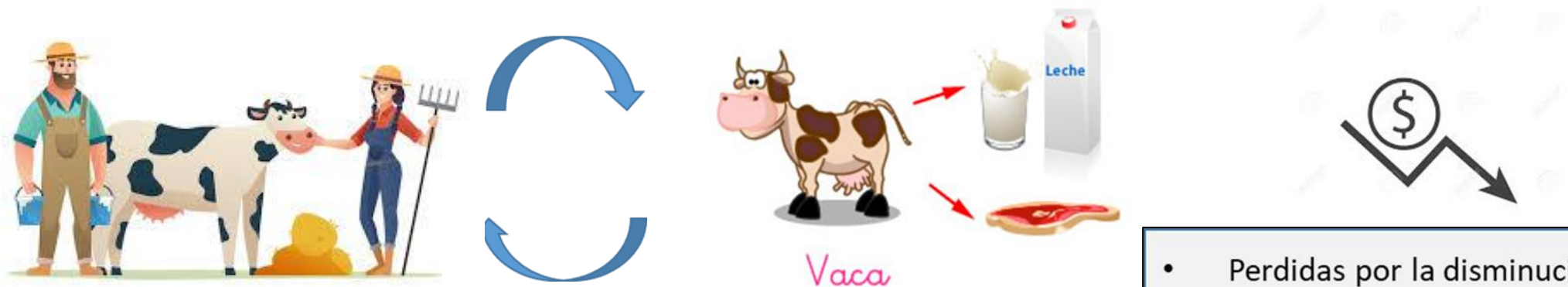
La TB zoonótica es un proceso que se transmite al ser humano de forma indirecta, mediante el consumo de leche contaminada o productos lácteos elaborados a partir de esta —por ejemplo, queso fresco— que no se somete a tratamiento térmico adecuado.

La transmisión puede ser directa, para los grupos que por las actividades de trabajo que realizan se ven expuestos al microorganismo (riesgo ocupacional) en algún punto de la cadena productiva.



Importancia: Impacto en la economía de los productores

- Además de la importancia zoonótica, la TBb tiene una notable y trascendente importancia económica.



- Perdidas por la disminución de la producción de leche, carne.
- Sacrificio de enfermos.
- Perdidas por disminución en la reproducción.
- Prohibición de intercambios comerciales.

Marco regulatorio de la Tuberculosis bovina en el país

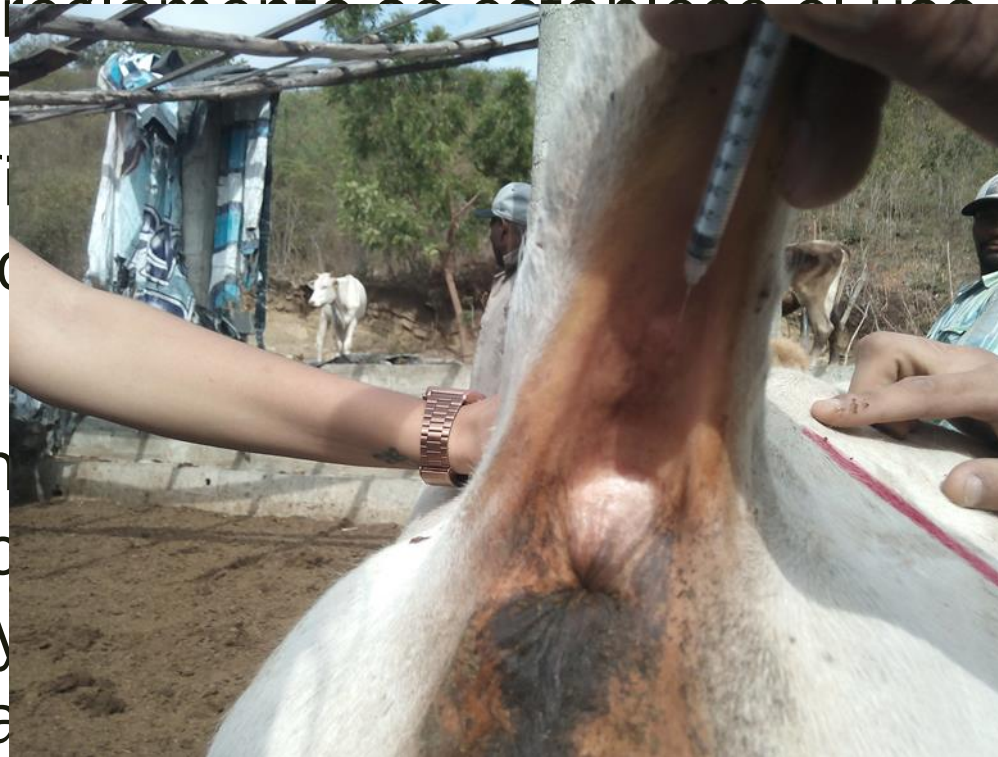
- La tuberculosis bovina es una realidad en la República Dominicana desde hace más de 70 años, como lo evidencia la ley 4030 del año 1955 (Ley de Defensa Sanitaria).
- Desde el sector oficial se ha “declarado de interés nacional la ejecución permanente de la campaña contra la brucelosis y la tuberculosis bovina”.
- El seguimiento de la TBb ocurre a través del Reglamento Ejecutivo No. 2888 del 20 de mayo de 1977, que sustenta el programa para la Prevención y Control de la Brucelosis, Tuberculosis y Garrapatas.



Marco Regulatorio

En la ley y su reglamento se establece el uso de la prueba de la tuberculina (PPD) proteico purificado en animales reaccionantes y negativos.

Este es el punto de partida para el control del mundo, incluyendo varias técnicas de aquellos animales reaccionantes a la PPD.



sanitarios oficiales, todos los de todo el mundo se utilizaran para la confirmación



Objetivos de la Investigación

Objetivo general:

- Analizar las características genéticas de *Mycobacterium bovis* y su incidencia en hospederos y subproductos presente en la República Dominicana.

Objetivos específicos:

- Determinar la diversidad genética y origen de *M. bovis* en la República Dominicana mediante técnicas moleculares.
- Comparar la eficacia de los métodos diagnósticos a partir de muestras de linfonodos, sangre y leche por medio de cultivos bacteriológicos y técnicas moleculares.
- Estimar la incidencia de Tuberculosis bovina en las principales regiones productoras de leche del país.
- Determinar la sobrevivencia de *M. bovis* en quesos hechos a partir de leche contaminada.



MATERIALES Y METODOS



1 Posterior a la aplicación y lectura de PPD, identificación de reaccionantes para toma de muestras en finca / matadero



1

Posterior a la aplicación y lectura de PPD, identificación de reaccionantes para toma de muestras en finca**



Sangre y leche



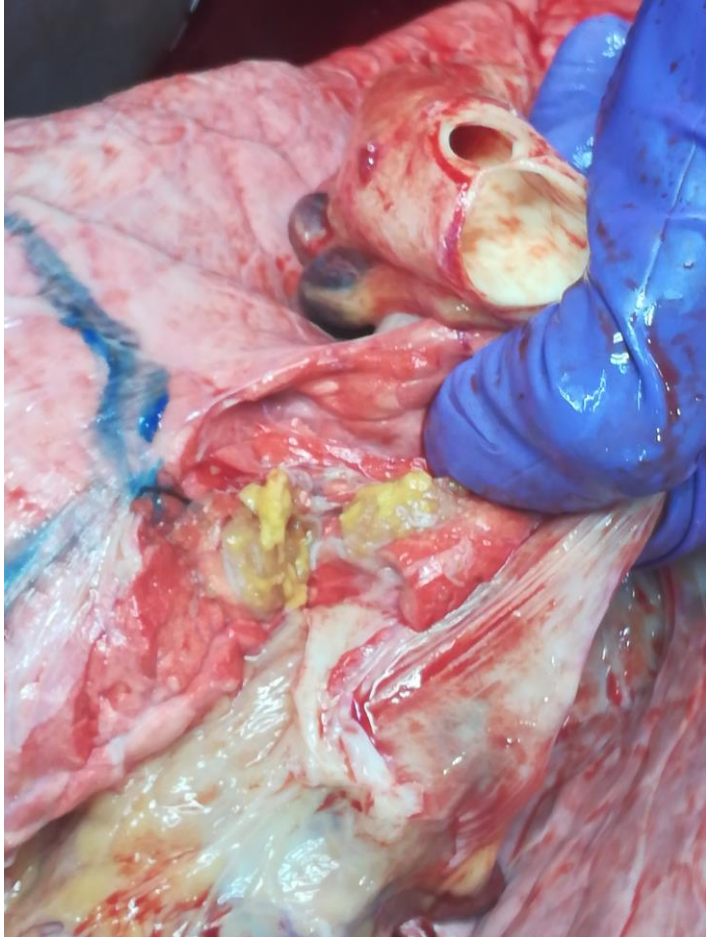


En el matadero los animales estampados con la T de tuberculosis o de fincas/zonas con prevalencia de TBb son sometidos a una **inspección post mortem** mas minuciosa



2

Recolección de muestras en mataderos que reciben animales de todo el país: pulmón/ganglios



2

Recolección de muestras en mataderos: Ganglios linfáticos.

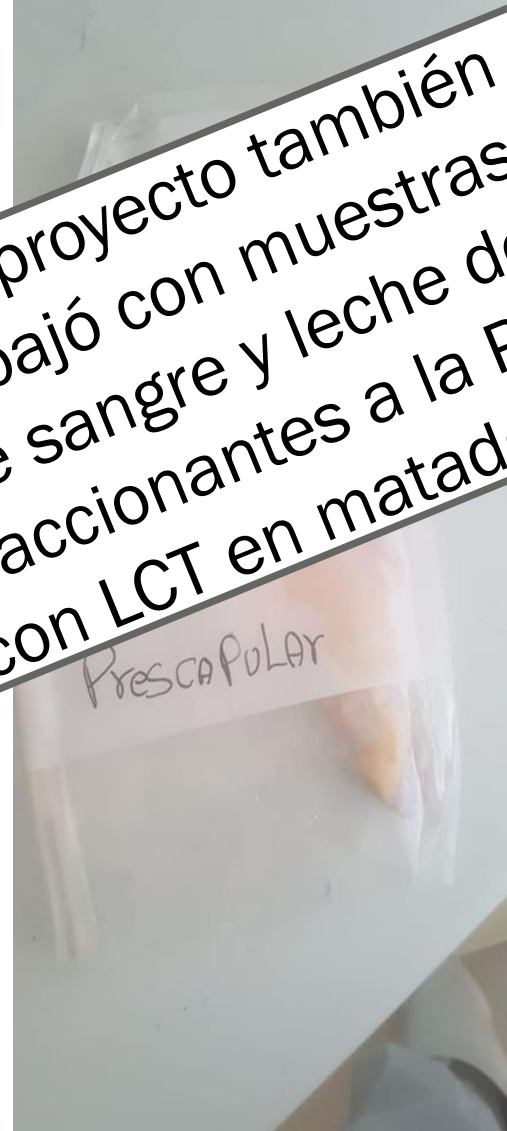


3

Transporte y adecuación de las muestras hasta su procesamiento



Este proyecto también trabajó con muestras de sangre y leche de reaccionantes a la PT y con LCT en mataderos



4

Proceso de seccionado de muestras para cultivo en medio ST y LJ y para extracción de ADN en tejido fresco.

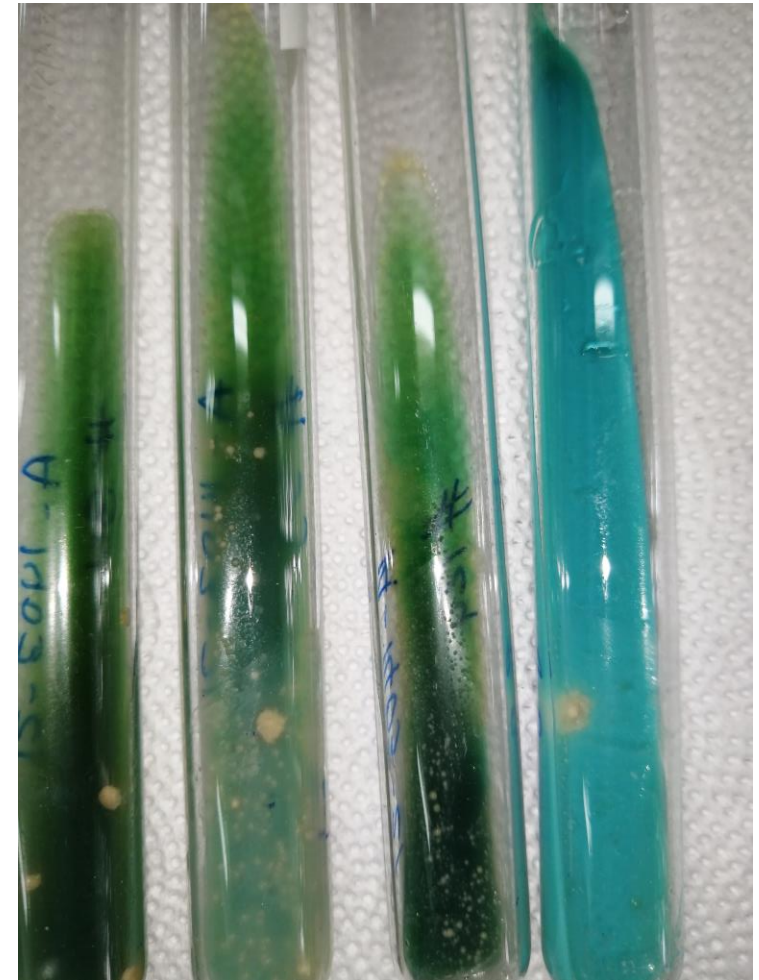
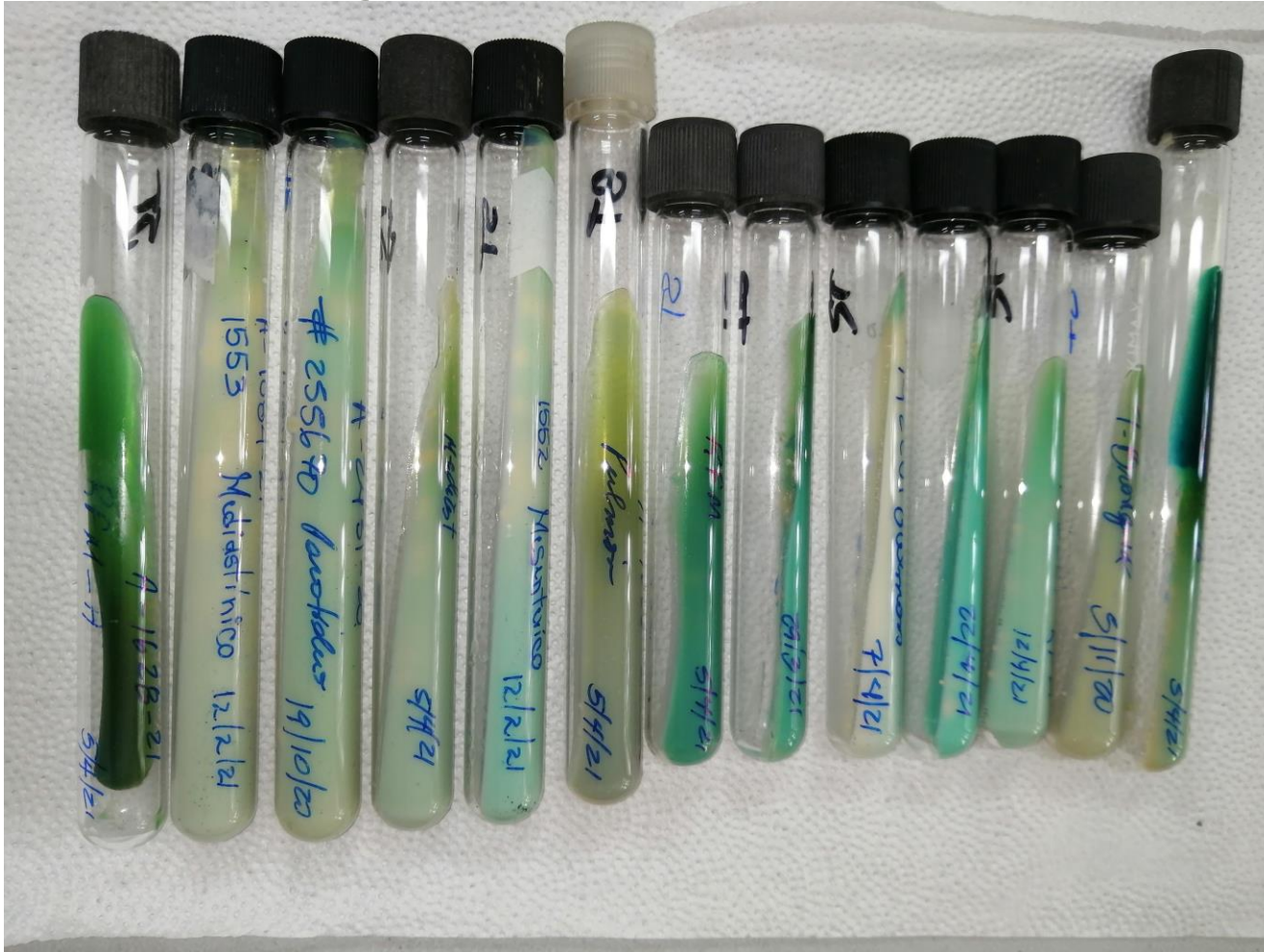


5

Crecimiento de las colonias características de *Mycobacterium bovis* en medio ST



5 Crecimiento de las colonias características de *Mycobacterium bovis* en medio ST



6

Extracción de ADN de cultivos mediante lisis térmica



Se extrajeron de 5 a 7 colonias por cultivo



90° 40 minutos



Extracción de ADN de tejido fresco con kits comerciales y protocolo de solventes orgánicos



RESULTADOS



ID	Provincia	Localidad	Matadero	PPD	Lesion	Cultivo	PCR tejido	Color verde resultado positivo en cultivo o tejido		
622430	Duarte	San Francisco M		POS	NEG	NEG	NEG			
888446	Dajabon	NSS		POS	NEG	NEG	NEG			
9087	Maria Trinidad	Nagua		POS	NEG	NEG	POS			
124316	San Pedro M	NSS		POS	POS	NEG	NEG			
124172	San Pedro M	NSS		POS	POS	NEG	NEG			
672658	San Pedro M	NSS		POS	POS	NEG	NEG			
8756	Valverde	Mao		POS	POS	NEG	NEG			
329	Valverde	Mao		POS	NEG	NEG	NEG			
4010	Valverde	Mao		POS	NEG	NEG	POS			
2967	Valverde	Mao		POS	NEG	NEG	POS			
5546	NSS	NSS	Noroeste/ Agp	POS	NEG	NEG	NEG			
8611	NSS	NSS	Noroeste/ Agp	POS	POS	NEG	POS			
9761	NSS	NSS	Noroeste/ Agp	POS	NEG	NEG	POS			
7818	NSS	NSS	Noroeste Agp	POS	NEG	NEG	POS			
8329	NSS	NSS	Noroeste/ Agp	POS	NEG	NEG	NEG			
7820	NSS	NSS	Noroeste/ Agp	POS	NEG	NEG	POS			
567420	Maria Trinidad	Cabrera		POS	POS	NEG	NEG			
142201	Maria Trinidad	Cabrera		POS	POS	NEG	NEG			
135041	Dajabon	NSS		POS	POS	NEG	NEG			
681759	Dajabon	NSS		POS	NEG	NEG	POS			
9925	Maria Trinidad	Nagua		POS	NEG	NEG	POS			
771930	Monte plata	Bayaguana		POS	POS	NEG	NEG			
59	Monte plata	Bayaguana		POS	POS	NEG	NEG			
771928	Monte plata	Bayaguana		POS	POS	NEG	NEG			
764604	San Pedro M	NSS		POS	NEG	NEG	NEG			
124306	San Pedro M	NSS		POS	POS	NEG	NEG			
561417	San Pedro M	NSS		POS	POS	NEG	POS			
1000025	San Pedro M	NSS		POS	POS	NEG	NEG			
124340	San Pedro M	NSS		POS	POS	NEG	NEG			
7048	Peravia	Bani		POS	POS	NEG	NEG			
9360	Peravia	Bani		POS	NEG	POS	NEG			



Resultados

Muestras PPD +	Muestras PPD -	Muestras LCT	Muestras no LCT	Muestras + a CB	Muestras + a PCR
31 = 100 %	0	16= 51.61 %	15= 48.39	1	10/16= 62.5%



Conclusiones

- La PT sigue siendo el método más eficaz a nivel mundial para identificar animales reaccionantes= sospechosos o positivos, para separarlos del hato (condición epidemiológica del hato o la zona) definirán si se necesita doble simple o doble comparada y esto posteriormente indicará el envío a sacrificio de los animales reaccionantes, sin embargo para poder tener resultados confiables la PPD debe tener una potencia adecuada, además de una correcta aplicación, lectura e interpretación.
- En el matadero los Médicos Veterinarios inspectores deben tener una sólida formación que les permita identificar correctamente las LCT y por ende tener más y mejores garantías de diagnóstico bacteriológico y molecular.
- La biología molecular para TBb representa una herramienta de mayor sensibilidad en muestras no LCT, además de acortar el tiempo de resultados de 6 a 8 semanas a 24 a 48 horas.
- Conocer y caracterizar esta enfermedad en las diferentes regiones del país lo que permitirá establecer mejoras en las acciones enmarcadas en el plan de control de TBb en República Dominicana.



Recomendaciones

- Continuar línea de investigación en TBb para evaluar cuales herramientas diagnosticas ofrecen mayores garantias de sensibilidad y especificidad para la realidad de República Dominicana, a los fines de controlar con miras a la erradicación de esta importante enfermedad infecciosa zoonótica.



Agradecimientos

- A DIOS PADRE por ser mi SEÑOR, GUIA y quien me ha permitido realizar estos trabajos.
- Ministerio de Educación Superior Ciencia y Tecnología (MESCYT) a través del FONDOCYT
- Facultad de Ciencias Agronómicas y Veterinarias de la Universidad Autónoma de Santo Domingo (UASD)
- Profesor Dr. Luís Matos Casado por ser guía y apoyo en todas las investigaciones y actividades que desde el ámbito de la ciencia estamos realizando.
 - A los estudiantes que participaron en la investigación y quienes con su dedicación y esfuerzo han colaborado para completar los objetivos de la investigación.
- Asociaciones de ganaderos del este y del sur del país.



