



Universidad Autónoma de Santo Domingo

Primada de América/Fundada el 28 de octubre del 1538

Facultad de Ciencias Agronómicas y Veterinarias (FCAV)

Instituto de Enfermedades Infecciosas y Zoonóticas (IEIZ)

TUBERCULOSIS BOVINA: COMPARACIÓN DE DOS MÉTODOS DIAGNÓSTICOS EN MUESTRAS DE TEJIDO FRESCO DE BOVINOS CON LESIONES COMPATIBLES CON LA ENFERMEDAD.

Yorkiris Consuegra Martínez MV, Lucas Alcantara MV, Dra. Soledad Barandiaran, Dra. María Jimena Marfil, Dr. Juan Araujo, Dra. Raysa Elena Reyes Santiago.

**PROYECTO “ANÁLISIS GENÉTICO
POBLACIONAL E INCIDENCIA DE
MYCOBACTERIUM BOVIS EN HOSPEDEROS Y
SUBPRODUCTOS DERIVADOS DE BOVINOS
EN LA REPÚBLICA DOMINICANA”, con el
código 2018-2019-2D2-178**

Financiado con los recursos del Ministerio de Educación Superior Ciencia y Tecnología (MESCyT), en su Fondo Nacional de Innovación y Desarrollo Científico y Tecnológico (Fondocyt).

Introducción

Cada día, cerca de **4400 personas pierden la vida por la tuberculosis y cerca de 30.000 personas** enferman de esta enfermedad prevenible y curable (OPS, 2023).



Fuente: CDC

Tuberculosis bovina

En el bovino la TB es causada por *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*), esta bacteria está dentro de un complejo llamado *Mycobacterium tuberculosis* (CMTB).

La tuberculosis bovina (TBb) es una enfermedad curso crónico que afecta principalmente a los bovinos y se caracteriza por la formación de granulomas en los órganos afectados.

Pero además de al bovino, puede afectar a otros mamíferos, incluyendo al ser humano



Fuente: Raysa Reyes

¿POR QUÉ ES IMPORTANTE ESTA ENFERMEDAD?

Zoonosis



Fuente:

<https://www.20minutos.es/noticia/1156728/0/camboya/alimentado/vaca/>

- La TBb es considerada una enfermedad de importancia mundial según la Organización Mundial de Sanidad Animal (OMSA), debido a su potencial zoonótico.
- Los casos de tuberculosis en humanos por *M. bovis* representan del **0,5 a 7,2%** en los países industrializados, y de un **10 a un 15%** en los países en desarrollo (de la Rua-Domenech, 2006).
- En República Dominicana (RD) no se conoce con exactitud la participación de *M. bovis* en la TB en humanos (Duran, 2018).

¿POR QUÉ ES IMPORTANTE ESTA ENFERMEDAD?



Fuente: <https://www.freepik.es/fotos/perdidas-economicas>

Además de su impacto a la salud humana, están las pérdidas que genera la enfermedad a la ganadería.

Desde el punto de **vista social y económico** la TBb representa para la República Dominicana grandes pérdidas económicas para el sector ganadero, en especial los pequeños productores y a nivel de la agricultura familiar. Por lo que es un problema de salud pública y de sanidad animal que merece que se le preste particular atención desde la óptica de «Una sola salud».

Estos dos aspectos, resaltan la importancia de abordar e investigar sobre esta enfermedad.

Problemática de investigación

Para la tuberculosis bovina (TBb), el método diagnóstico utilizado de forma masiva es la prueba de tuberculina (PT), prueba basada en la reacción inmunológica del animal a causa de los antígenos inoculados.

Sin embargo, la prueba requiere de un método confirmatorio para poder realizar el diagnóstico definitivo de la enfermedad.



Fuente: Raysa Reyes

Problemática de investigación

El cultivo bacteriológico es el método de confirmación, utilizado mundialmente para el diagnóstico definitivo de la TBb.

M. bovis es una bacteria de lento crecimiento en cultivo (8 semanas aproximadamente), esto conlleva a la búsqueda e implementación de otros métodos, que acorten los tiempos de respuesta y mejoren la eficiencia del diagnóstico (Suaza, 2015).



Fuente: Yorkiris Consuegra

Justificación

La técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) está siendo ampliamente utilizada en medicina veterinaria, para el diagnóstico de enfermedades (Acevedo, 2018).

Ya que es una valiosa alternativa frente a los métodos clásicos de diagnóstico, que requieren de un tiempo prolongado para arrojar los resultados.

La técnica de PCR nos permite obtener resultados en menos de 24 horas, acortando así considerablemente el tiempo de espera de los resultados, por lo que puede ser utilizada como una prueba de diagnóstico para la identificación de *M. bovis*.



Fuente: Yorkiris Consuegra

Objetivo

El objetivo de esta investigación fue aplicar la técnica de PCR directamente sobre muestras de tejido de bovinos con lesiones compatibles con tuberculosis (LCT), recolectadas en distintos mataderos de República Dominicana y compararla con el tradicional cultivo bacteriológico.

Metodología.



Metodología.

Toma de muestra: Las muestras fueron colectadas en distintos mataderos de Santo Domingo, con una previa comunicación y autorización se tuvo acceso al área de sacrificio y el personal inspector de dicha área nos tomaba y entregaba las muestras de órganos y/o tejidos de animales con lesiones compatibles con tuberculosis.

Dichas muestras fueron colocadas en bolsas WHIL-PAK estériles identificadas y transportadas en neveras con hielo hasta los laboratorios del edificio Iván Guzmán Klang de la Facultad de Ciencias Agronómicas y Veterinarias de la UASD, donde se procesaron.



Metodología.

Procesamiento de las muestras



Fuente: Raysa Reyes, Yorkiris Consuegra.

Purelink Genomic DNA Mini Kit 250

INBIO HIGHWAY ADN PuriPrep- T kit

Luego de la extracción del ADN, se procedió a realizar la PCR *IS6110* a cada una de las muestras.

Metodología

Procedimiento para realizar la PCR:

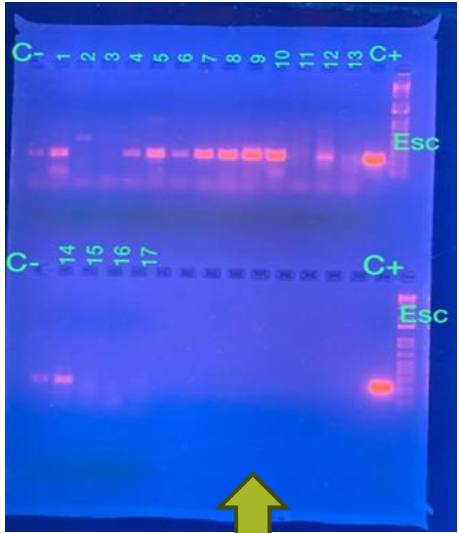
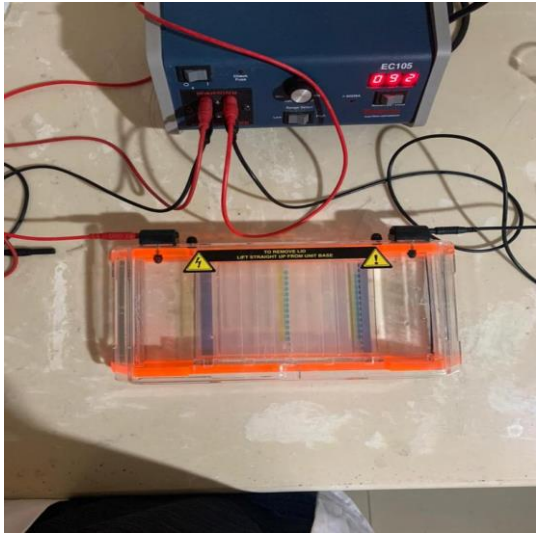
- Agua de PCR
- Taq-polimerasa
- Primers INS
- ADN extraído previamente de las muestras.



Fuente: Raysa Reyes y Yorkiris Consuegra

Visualización e interpretación de los resultados

Metodología



Fuente:
Raysa Reyes.
Yorkiris Consuegra

Resultados

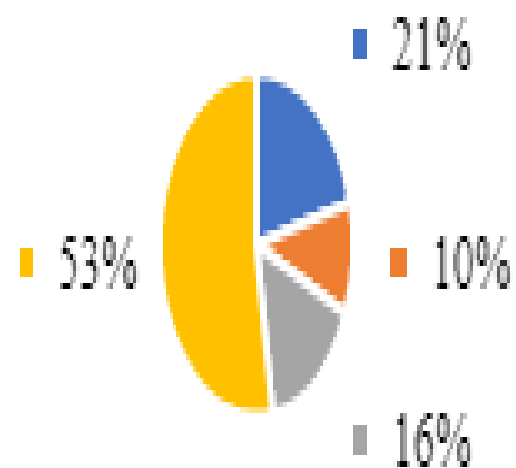
De un total de 76 muestras con LCT:

En el 26.31% (20/76) se aisló *M. bovis* en el cultivo bacteriológico y el 36.84% (28/76) fueron positivas a la PCR sobre ADN extraído de tejido. El 21.05% (16/76) de las muestras fueron positivas a la PCR y negativas en el cultivo. El 10.52% (8/76) de las muestras fueron positivas al cultivo y negativas a la PCR. Y el 52.63% (40/76) tuvieron un resultado negativo en el cultivo y también a la PCR, mientras que 15.78% (12/76) fueron positivas en ambos métodos (Tabla 3).

Tabla 3. Resultados de las muestras (Grupo 1).

Positivos a la PCR y negativos en el cultivo	Positivos al cultivo y negativos a la PCR	Positivos a ambas pruebas	Negativos a ambas pruebas	<u>Total</u> de muestras
16	8	12	40	76
21.05%	10.52%	15.78%	52.63%	100%

Resultados de las muestras con LCT (Grupo 1)



- Positivos a la PCR y negativas en el cultivo
- Positivos al cultivo y negativas a la PCR.
- Positivas a ambas pruebas
- Negativas a ambas pruebas

Conclusiones

- Se identificó la presencia de *M. bovis* en muestras de tejido bovino con LCT a través de cultivo bacteriológico y técnica de PCR.
- La PCR *IS6110* aplicada sobre ADN extraído de tejido tuvo mayor sensibilidad de detección que el cultivo bacteriológico.
- La PCR puede ser utilizada como una prueba de diagnóstico rápida para la TBb, a partir de muestras de tejido, ya que el procedimiento se puede realizar en menos de 24 horas.
- La comparación del cultivo bacteriológico y la técnica de PCR, para evaluar y comprobar la eficacia de esta última en el diagnóstico temprano de la TBb, ha sido realizada en varios estudios alrededor del mundo y fue la motivación para realizar el presente estudio en la República Dominicana.
- Esta es la primera investigación que utiliza un método molecular aplicado directamente sobre tejido, para el diagnóstico de la tuberculosis bovina (TBb) en República Dominicana.

Agradecimientos





Muchas gracias
por su atención.

¡Dios les bendiga!