PCR EN EL DIAGNOSTICO VETERINARIO DE MICOPLASMAS

Y, R. Chávez,[1] C. Fernández[1] y K. E. Johansson[2]

[1]*Dpto. de Biología Molecular, Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria, Apto. 10, San José de las Lajas, La Habana, Cuba.* [2]*The National Veterinary Institute, Box 7073, S-750 07 Uppsala, Sweden.*

Introducción

Los micoplasmas son microorganismos sin pared celular que tienen gran afinidad por células eucariotas llegándoles a causar serias afectaciones (1). En animales importantes enfermedades son producidas por micoplasmas y estos son también una de las mayores causas de contaminación y pérdida en cultivos celulares (2, 3). Para la detección de micoplasmas se han desarrollado métodos bacteriológicos, serológicos, bioquímicos, de hibridación de ácidos nucleicos y más recientemente la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

En este trabajo se desarrolló la técnica de PCR basada en la amplificación del gen del RNA-ribosomal 16S para la detección de micoplasmas de interés veterinario y en cultivos celulares.

Materiales y Métodos

Se utilizaron cepas de referencia, muestras clínicas directas y de cultivo de células, Para cultivo de células los cebadores fueron tomados de la literatura (4,5) y para los de interés veterinario fueron diseñados por nosotros. Las muestras fueron procesadas y 5 uL fueron utilizados en una mezcla de reacción final de 50 uL. Las reacciones se realizaron en un equipo REACTOR THERMAL HYBAID. El estudio del producto amplificado se realizó en geles de agarosa teñidos con bromuro de etídio. Se realizaron estudios de sensibilidad y especificidad en cada caso.

Resultados y Discusión

Los dos juegos de primers utilizados en cultivo de células amplificaron un fragmento de 715 y 1 500 pb respectivamente y detectaron hasta 2 x 10^4 ufc/mL lo cual es un grado de sensibilidad adecuado para la detección. De 47 muestras evaluadas 40 de ellas fueron positivas y 7 negativas coincidiendo estos resultados con los obtenidos por cultivo microbiológico y por hibridación de ácidos nucleicos. De los micoplasmas de interés veterinario fueron seleccionados *Mycoplasma bovis* (Mb) y *Mycoplasma qallisepticum* (Mg). Los primers utilizados para la detección de Mb y Mg amplificaron un fragmento de 360 y 530 pb respectivamente. La sensibilidad obtenida para Mb fue de 4 x 10^2 ufc/mL y para Mg de 8 x 10^2 ufc/mL.

En los dos sistemas los primers fueron específicos para la especie de interés a detectar no amplificando otros micoplasmas bovinos o aviares en cada caso. El sistema de PCR para Mb fue evaluado en 40 muestras de exudados nasales de terneros de las cuales 18 fueron positivas coincidiendo con los resultados obtenidos por cultivo microbiológico. Estos resultados avalan el uso del PCR en el diagnóstico de este género microbiano.

1. Tully JG. Enciclopedia de Microbiológia 1992;3:181-191.

2. Razin S *et al.* En The Mycoplasmas 1985;4:508.

3. Bolske G. Zentralblatt fur Bakteriologie und Hygiene 1988;A269:331-340.

4. Van Kuppeveld FJM *et al.* Applied and Enviromental Microbiology 1992;58:2606-2615.

5. Deng S *et al.* PCR Methods and Applications 1992;1:202-204.