

**DIVERSIDAD DE *Mycoplasma hyopneumoniae* EN GRANJAS DE ARGENTINA**Tamiozzo, P.J.\*<sup>1,3</sup>; Lucchesi, P.M.A.<sup>2,3</sup>; Ambrogi, A<sup>1</sup>

1-Departamento Patología Animal. Facultad de Agronomía y Veterinaria. Universidad Nacional de Río Cuarto. Ruta 36 Km 601. Río Cuarto. Córdoba. República Argentina. 2-Lab. Inmunoquímica y Biotecnología-Fac. Cs. Veterinarias- UNCPBA Paraje Arroyo Seco s/n, Tandil, Prov. Bs As. República Argentina. 3-CONICET.

\*e-mail: [ptamiozzo@ayv.unrc.edu.ar](mailto:ptamiozzo@ayv.unrc.edu.ar)**INTRODUCCION**

La existencia de diferentes cepas de *Mycoplasma hyopneumoniae* (Mhp) ha sido demostrada desde hace tiempo (Vicca *et al.*, 2003). Una herramienta de tipificación genética rápida y de gran utilidad es la secuenciación de productos de PCR directamente de muestras clínicas. La parte C-terminal del gen *p146* que codifica para una lipoproteína (adhesina) posee una región repetida de serinas que es útil para la identificación de diferencias genéticas de Mhp (Mayor *et al.* 2007). En nuestro país no existen antecedentes acerca de la existencia de diferentes cepas de Mhp circulantes en las granjas. El propósito del presente estudio fue determinar diferencias genéticas entre Mhp presentes en cerdos de diferentes granjas, analizando directamente muestras clínicas.

**MATERIALES Y MÉTODOS**

Se trabajó con muestras de lavado bronquial e hisopado nasal de animales provenientes de distintas granjas. La cantidad de animales por granja se muestran en el cuadro 1.

**Cuadro 1. Cantidad de muestras secuenciadas y alineadas según el origen de los animales muestreados**

Granja	Cantidad (y código) de muestras
A	2 (1 y 2)
B	2 (3 y 4)
C	2 (5 y 6)
D	2 (7 y 8)
Mhp cepa 232	1

El ADN fue extraído utilizando el kit DNAzol (Invitrogen). Para las muestras de hisopado nasal se realizó una nPCR usando como cebadores externos los descriptos por Tamiozzo (datos inéditos) y como cebadores internos los descriptos por Mayor *et al.* (2007). Las muestras de lavado bronquial fueron procesadas sólo por la PCR de Mayor *et al.* (2007). Los productos obtenidos fueron purificados, cuantificados y posteriormente secuenciados (INTA Castelar). Las secuencias de aminoácidos deducidas, además de las secuencias de aminoácidos de las 3 cepas disponibles en el Genbank fueron alineadas (ClustalW) y fueron contadas las repeticiones de serina de las muestras.

**RESULTADOS**

En el cuadro 2 se observa la cantidad de serinas codificadas en la región repetitiva del gen *p146* de cada muestra o cepa de referencia.

Muestra	Cantidad de serinas
Cepa 7448 (Genbank)	44
Cepa J (Genbank)	17
Cepa 232 (Genbank y secuenciada en este estudio)	21
2,3,4,5 y 6	14
1 y 7	16
8	17

**DISCUSION**

Si bien en el presente estudio no fueron analizadas las secuencias de nucleótidos "flanco" de la región de serinas repetidas ni las secuencias de elementos repetitivos (REP), ni el transportador putativo de genes ABC, ambos informados desde hace tiempo (Dubosson *et al.*, 2003) e incluidos en otro estudio (Mayor *et al.*, 2007) es claro, al alinear y contar la región de poli-serinas, que existen diferencias entre algunos de los Mhp presentes en las muestras estudiadas. Las cepas de referencia (GenBank) mostraron entre 17 y 44 repeticiones de serina. La cepa 232 disponible en el Genbank mostró 21 repeticiones, al igual que la cepa 232 amplificada y secuenciada en el presente estudio. Las muestras de las granjas A, B y C mostraron 14 repeticiones, salvo una de ellas que tuvo 16 (correspondiente a un animal reproductor de la granja A), esto es interesante ya que las tres granjas están relacionadas entre sí. Las muestras correspondientes a la granja D mostraron 16 y 17 regiones repetidas, lo que muestra una diferencia de 6 a 9 nucleótidos con el perfil compartido por las muestras de las otras 3 granjas. Según el conocimiento de los autores, es la primera vez que se informan diferencias entre Mhp en nuestro país y se aplica esta metodología de tipificación genética de Mhp.

**BIBLIOGRAFÍA**

Vicca *et al.*, 2003. *Vet. Microbiol.* 97: 177-190  
 Mayor *et al.* 2007. *Vet Res.* 38(3):391-8  
 Dubosson *et al.*, 2004. *Vet. Microbiol.* 102: 55-65