

XIV SESIONES DE COMUNICACIONES

TÉCNICAS Y CIENTÍFICAS ESTUDIANTILES

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

2015



IMPLEMENTACIÓN DE TÉCNICAS DE PCR PARA IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES EN ALIMENTOS DE ORIGEN ANIMAL.

Autores: Sosa, Fabiana E. - Sandoval, Gladis L. - De Biasio, María B.

Servicio Veterinario de Biología Molecular, Cátedra de Bioquímica, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNNE. Email de contacto: fp_26_05@hotmail.com

La exigencia por parte de los consumidores solicitando calidad en los productos que consumen y su autenticidad se incrementa día a día, teniendo como objetivo evitar el fraude económico por sustitución de determinadas materias primas. Existen también requerimientos especiales, relacionados con aspectos de salud o de orden sanitaria y razones culturales, tal es el caso del no consumo por parte de los musulmanes de productos de origen porcino. Los métodos más empleados para la identificación de especies animales en carnes y productos cárnicos procesados se basan en el análisis de proteínas; estas metodologías tienden a ser desplazadas actualmente por el estudio de ADN nuclear o mitocondrial, lo que permite determinar de manera más exacta el origen y la identificación de todos los productos que llegan al consumidor, aunque ya estén procesados. El objetivo de la beca que enmarca el presente trabajo es la optimización de las condiciones de PCR (reacción en cadena de la polimerasa), desarrolladas para la detección e identificación, utilizando sistemas modelos, con diferentes muestras de las especies vacuna, bubalina, ovina, porcina, aviar, canina, felina y equina. Para ello, hasta el presente se han obtenido muestras de sangre de dichas especies, a partir de las que se efectúa extracción de ADN utilizando el detergente CTAB (Bromuro de cetil trimetilamonio) para la digestión celular. En el caso de la muestra de sangre, previo a la incubación con detergente, se provoca lisis osmótica de los glóbulos rojos; luego se purifica el ácido nucleico por incubación con cloroformo: alcohol isoamílico y posteriormente se precipita con isopropanol. El precipitado se lava con etanol 70% y luego se resuspende en agua destilada, conservándose a -20°C hasta su utilización. Los cebadores de PCR para la amplificación fueron diseñados como se describe por WALKER JA, et al. (2004) y por ILHAK O. Irfan (2006). La puesta a punto de las PCR se realiza en el laboratorio, determinando las condiciones óptimas para cada muestra y cada especie, ensayando diferentes condiciones químicas y térmicas para la amplificación de las regiones de ADN específicas, separando los productos en geles de agarosa 2% utilizando buffer TBE 1x y bromuro de etidio para la visualización (transiluminación UV). Se concluye entonces que es posible encontrar las condiciones adecuadas de las técnicas moleculares seleccionadas en el proyecto de beca para optimizarlas e identificarla/las especie/s de origen (utilizando cebadores específicos) de las materias primas alimenticias mediante PCR. A fines de proteger a consumidores y productores de alimentos, garantizando el origen de los insumos, se hace necesario contar con herramientas sensibles, con un 100% de certeza, como la PCR. En caso de mezclas de productos de varias especies se podría detectar hasta un nivel de 0,1 % de inclusión. Asimismo, mediante la optimización de esta técnica, se dispondría de una metodología útil para programas de inspección bromatológica en identificación de especies animales.

Presentación: Póster.