

BRUCELOSIS EN CANINOS DOMESTICOS. DIAGNOSTICO MOLECULAR
Microbiología, Enfermedades Infecciosas y parasitarias.

Miceli, Ana Paola; Di Lorenzo CL; Scuffi AB y Cabral,M.

Laboratorio de Inmunología. Facultad de Ciencias Veterinarias. La Plata

ana.miceli@fcv.unlp.edu.ar

Las especies que conforman el genero *Brucella* causan enfermedades en animales domésticos y salvajes incluyendo bovinos, ovinos, caprinos, suinos, caninos. La importancia del canino como trasmisor de diversas variedades del genero al hombre y demás animales convivientes adquiere una importancia tanto en el ámbito urbano como rural, tanto desde la mirada de la salud publica como desde el aspecto productivo-sanitario en explotaciones comerciales. El objetivo del trabajo es el de presentar los resultados de una Prueba de reacción en cadena de la Polimerasa de tipo Multiplex para la identificación de diferentes biovariedades del genero *Brucella.spp.*

INTRODUCCION

Las especies que conforman el genero *Brucella* causan enfermedades en animales domésticos y salvajes incluyendo bovinos, ovinos, caprinos, suinos, caninos. La importancia del canino como trasmisor de diversas variedades del genero al hombre y demás animales convivientes adquiere una importancia tanto en el ámbito urbano como rural, tanto desde la mirada de la salud publica como desde el aspecto productivo-sanitario en explotaciones comerciales.

La brucelosis es una enfermedad crónica, francamente invalidante para el ser humano por lo que el diagnostico y la prevención en los animales transmisores debe ser, como para el resto de las enfermedades zoonóticas presentes en nuestro país, corrientemente abordadas por el profesional veterinario. El diagnostico indirecto de las enfermedades infecciosas se complica al tener que tener a punto diversas pruebas para cada modelo, y la necesidad de requerir muestras pareadas para arribar a conclusiones relevantes ante la presencia de brotes. Por otra parte el diagnostico directo, se ve limitado por la mayor complejidad estructural, el tiempo y la bioseguridad requerida. En consecuencia la posibilidad de contar con pruebas seguras, que ofrezcan la posibilidad de identificar en una sola secuencia diagnostica diversas biovariedades de microorganismos sin lugar a dudas representa una excelente herramienta. El objetivo del trabajo es el de presentar los resultados de una Prueba de reacción en cadena de la Polimerasa de tipo Multiplex para la identificación de diferentes biovariedades del genero *Brucella.spp.*

MATERIALES Y METODOS

Para la realización de la prueba se aplico el protocolo y los ocho pares de oligonucleótidos, descritos por Gracia Yoldy et al. Las cepas utilizadas fueron . *B canis*, aislados de caninos naturalmente infectados y certificadas por el Instituto Malbran de Argentina, Cepas vacunales de

Brucella abortus cepa 19 , Rb 51 y *Brucella Melitensis* Rev 1 , una cepa de campo de *Brucella suis*, certificada por el Instituto Malbran. Las cepas se cultivaron en Agar Trypticasa Soya por 48hs, y se realizo la extracción del DNA, utilizando el kit de Fermentas (genomic DNA purifications Kit). Utilizándose un marcador de 100 pb.

RESULTADOS

Las bandas correspondientes a las cepas lisas difieren en numero y tamaño, *B abortus* cepa 19 amplificó tres bandas principales de: 1682; 794; y 450 pb; *Brucella abortus* Rb 51:amplificó 3 bandas principales (794, 587 y 450 pb) diferenciándose de la anterior en la presencia de la banda de 587 pb. *B. melitensis* cepa Rev 1 amplifico 5 bandas de 1682,1071,794,587,450). *B suis*, amplifico 5 bandas (1682,794,587,450 y 280 pb, respectivamente). Las cepas de *B canis* RM 666, y el resto de las cepas de *B canis* resultaron con las mismas 5 bandas que amplificara *B.suis*.

CONCLUSIONES Y DISCUSION

La PCR puede ser una excelente metodología para el diagnostico directo de la brucelosis de una manera simple y segura, para aquellos laboratorios que no tienen la posibilidad de realizar el examen bacteriológico. Permitiendo además la identificación de las biovariedades actuantes y la posibilidad de inferir sobre las posibles fuentes de infección y el cuadro epidemiológico, direccionando la implementación de las medidas de control en forma rápida y correcta.

BIBLIOGRAFIA

- Caracterización de la diversidad genética de *Brucella* por multilocus .Adrian M Whatmore *, Lorraine L Perrett y Alastair MacMillan P
- Comparative Whole-Genome Hybridization Reveals Genomic Islands in *Brucella* Species†Gireesh Rajashekara, Jeremy D. Glasner, David A. Glover, and Gary A. Splitter**Department of Animal Health and Biomedical Sciences, University of Wisconsin, Madison, Wisconsin 53706* Received 23 February 2004/Accepted 19 April 2004
- Evolución comparada de mecanografía SNP y 'Bruce-ladder' en el discriminación de *Brucella suis* y *Brucella canis* Mark S. Koylass, Amanda C. King, James Edwards-Smallbone, Krishna K. Gopaul, Lorraine L. Perrett, Adrian M. Whatmore
- Evaluation of a Multiplex PCR Assay (Bruce-ladder) for Molecular Typing of All *Brucella* Species, Including the Vaccine Strains▽ †I. López-Goñi,1,* D. García-Yoldi,1 C. M. Marín,2 M. J. de Miguel,2 P. M. Muñoz,2 J. M. Blasco,2 I. Jacques,3,4 M. Grayon,4 A. Cloeckert,4 A. C. Ferreira,5 R. Cardoso,5 M. I. Corrêa de Sá,5 K. Walravens,6 D. Albert,7 and B. Garin-Bastuji7