

# Diagnóstico molecular de ratas portadoras de *Corynebacterium kutscheri* a través de hisopados orofaríngeos

Fontes.F<sup>1</sup>, Rocha.S<sup>1</sup>, Santos.M<sup>1</sup>, Breijo.M<sup>1</sup>  
 1Unidad de Reactivos y Biomodelos de Experimentación, Facultad de Medicina, UdelaR, Uruguay

## INTRODUCCIÓN

- A partir de nódulos pulmonares hallados en la necropsia de una rata Wistar del bioterio convencional se aisló *Corynebacterium kutscheri*, un bacilo gram positivo, aeróbico y no móvil (Figura 1 A, B) que mayormente induce una infección subclínica y persistente en ratas y ratones.
- Este agente, frente a situaciones de stress, enfermedades inmunosupresivas o deficiencias nutricionales, puede manifestar una enfermedad clínica que en ratas generalmente cursa con sintomatología respiratoria.
- La vía de transmisión del bacilo es feco-oral.

## OBJETIVO

- Desarrollar una metodología rápida para la identificación de *Corynebacterium kutscheri* en ratas portadoras.

## MATERIALES Y MÉTODOS

- A partir de hisopados orofaríngeos y heces frescas de 6 ratas se estudió la presencia de *C. kutscheri* por PCR. La extracción de ADN de las muestras colectadas se realizó con kit Quick g-DNA Miniprep, Zymo Research.
- Como control positivo, se utilizó ADN extraído de la cepa aislada y como control negativo, se utilizaron muestras de heces e hisopados de ratas del área SPF de la Unidad.

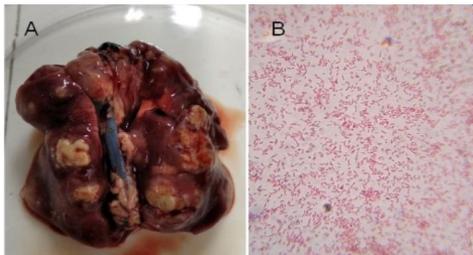


Figura 1. Infección pulmonar por *C. Kutscheri*. A- nódulos pulmonares. B- Bacilos teñidos con Gram observados al microscopio.

- Se amplificaron los fragmentos usando los primers: 5'CGT GAT GGC CAT CTT TGG TT 3' y 3'AAT CGT ATT AGC AAA GGT ATG C 5', que flanquean una región de 540 pb, ajustando el volumen de la reacción a 25ul.
- Los fragmentos se visualizaron por electroforesis en un gel de agarosa al 2% (Figura 2).

## RESULTADOS

- De los 6 animales analizados, 4 resultaron positivos a partir de los hisopados orofaríngeos, mientras que solo 2 lo fueron a partir de muestras de heces.

## CONCLUSIONES

- El hisopado orofaríngeo es la muestra de elección para diagnóstico de *C. kutscheri* por PCR convencional. Sin embargo es posible determinar su presencia a partir de muestras de heces.



Figura 2. Corrida electroforética de los productos de PCR: Carril 1-marcador de peso molecular 1kb; Carril 2-control positivo de *C. kutscheri*; Carriles 3, 5, 7 y 9- muestras tomadas a partir de hisopados orofaríngeos; Carriles 4, 6, 8 y 10- muestras tomadas a partir de materia fecal; Carriles 11 y 13 - controles negativos tomados a partir de hisopados orofaríngeos; Carriles 12 y 14 - controles negativos tomados a partir de materia fecal; Carril 15 control negativo del PCR.

- Se describe una técnica rápida de evaluación *in vivo* de portadores de *C. kutscheri* en colonias de roedores, que permite el control y monitoreo sanitario de los animales de laboratorio.