

PRUEBA PCR MULTIPLEX PARA EL DIAGNOSTICO DE LA BRUCELOSIS CANINA

Miceli AP, Di Lorenzo C y Scuffi B.

•Facultad de Ciencias Veterinarias. UNLP. Buenos Aires Argentina

INTRODUCCIÓN

La *Brucella canis* tiene como huésped específico al canino, pero este es capaz de infectarse también con *Brucella abortus*, *suis* y *melitensis*. Los métodos microbiológicos utilizados comúnmente en la detección de estos patógenos, son laboriosos, consumen mucho tiempo y finalmente requieren de la confirmación de instituciones de referencia. Esta situación, aunada a la demanda por resultados inmediatos dado el carácter zoonótico de la enfermedad, ha conducido al desarrollo de una amplia gama de métodos rápidos de base molecular para que en condiciones de bioseguridad más favorables, en menos tiempo y con carácter confirmatorio, identificar no solo el género bacteriano interviniente sino la especie para permitirnos un abordaje concreto del análisis epidemiológico del caso.

OBJETIVO/S

El objetivo del trabajo fue el determinar la utilidad diagnóstica de una prueba de PCR multiplex para la discriminación de la infección en el canino por las diferentes especies del género *Brucella.spp.*

MATERIALES & MÉTODOS

Se utilizaron cepas de *B canis* RM 6/66, Cepa M menos y 81 cepas bioquímicamente compatibles, aislados de caninos naturalmente infectados y certificadas por el Instituto Malbrán de Argentina, Cepas vacunales de *B abortus* cepa 19, RB51 y *B. melitensis* Rev 1 una cepa de campo de *Brucella suis*, certificada por el Instituto Malbrán. Las cepas se cultivaron en Agar Tripticasa Soya por 48hs, y se realizó la extracción del DNA, utilizando el kit de Fermentas (genomic DNA purifications Kit). Se continuó con el protocolo publicados por García-Yoldi y col (2006), utilizando los 8 pares de oligonucleótidos publicados.

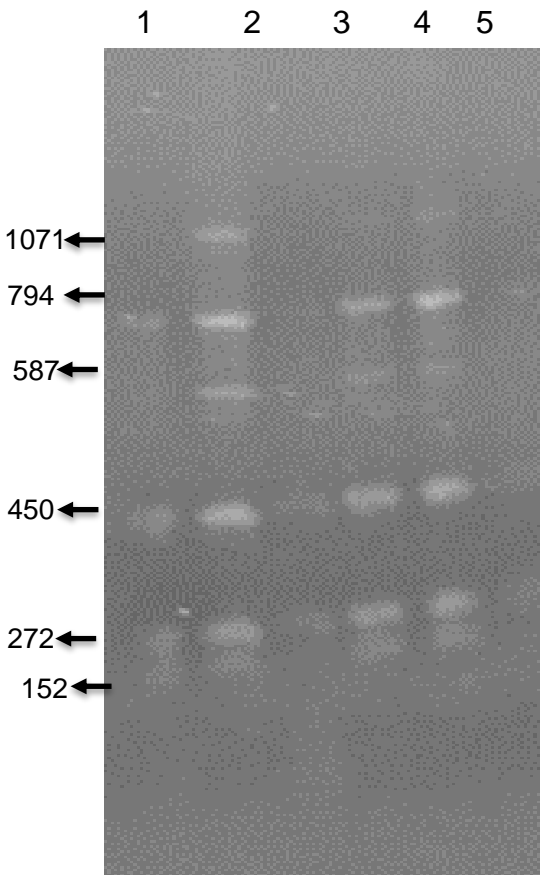
RESULTADOS

Las bandas correspondientes a las cepas lisas difieren en número y tamaño, *B abortus* cepa 19 amplificó tres bandas principales de: 1682; 794; y 450 pb; *Brucella abortus* RB51: 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 amplificó 5 bandas de 1682, 1071, 794, 587, 450). *B.suis*, amplificó 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

Los resultados resultan alentadores, por lo que el PCR puede ser una excelente metodología para el diagnóstico directo de la brucelosis canina, 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 y la posibilidad de inferir sobre las posibles fuentes de infección y el cuadro epidemiológico de la enfermedad en cada caso. Debiendo resaltar que a partir del trabajo de otros autores y nuestros resultados, la semejanza entre *B suis* y *B canis* plantea la necesidad de analizar sus posibles causas.

Foto 1 : PCR Multiplex de cepas de referencia y de campo de *B canis*



Ref: Línea 1: *B canis* RM666 Línea 2 : *B canis* cepa - M Línea 3: *B suis* Línea 4: *B canis* aislamiento aborto canino Línea 5: *B canis* macho reproductor