

## EVALUACION DE HATOS DE GANADO “LIBRES DE BRUCELLA” EN LA REGION NORESTE DE MEXICO, MEDIANTE PCR-MULTIPLEX

Alejandro S. Varela, Ana M. Sifuentes-Rincón y Hugo A. Barrera-Saldaña

Centro de Biotecnología Genómica-IPN. Blvd. Del Maestro esq. con Elías Piña Col Narciso Mendoza, Cd. Reynosa, Tam. C.P 88710 FAX (89) 25 16 56.

**Email:** alejandrosv@yahoo.com

**Palabras claves:** *Brucella*, PCR, detección

**Introducción.** A nivel mundial, la brucelosis es una enfermedad con un gran impacto económico y sanitario. Aunque en algunos estados de México se ha descrito la erradicación de *Brucella abortus* en ganado bovino, hay reportes de brotes epidémicos causados por *Brucella melitensis*, especie que es capaz de infectar este tipo de ganado además del caprino y ovino (1). La infección de bovinos con *B. melitensis*, es particularmente importante, ya que las vacunas utilizadas en contra de *B. abortus* no protegen efectivamente contra *B. melitensis* y la dirigida específicamente contra esta cepa aun no ha sido evaluada para su uso en bovinos (2).

El mantenimiento de ganado libre de *Brucella* depende de la eficiencia de las pruebas para la detección de los animales infectados. Las pruebas serológicas utilizadas a la fecha, presentan algunas limitaciones como son la incapacidad de diferenciar entre el ganado que presenta anticuerpos por estar infectado con *Brucella*, y el ganado que produce anticuerpos por la inyección de la vacuna disponible para el control de la enfermedad (3,4). Estas pruebas presentan además reacción cruzada con otros microorganismos que infectan al ganado, lo cual pone en peligro el logro y mantenimiento de ganado libre del agente infeccioso. Por tal razón, y tomando en cuenta las ventajas de especificidad, sensibilidad y rapidez que representa el uso de las técnicas de Biología Molecular nos propusimos evaluar la utilidad de un método de diagnóstico basado en la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), que permite además diferenciar las especies del género. El método que hemos optimizado se basa en la combinación de la PCR con RFLPs (5).

**Metodología.** A partir de 25 y 50 muestras de sangre de ganado bovino y caprino provenientes de la región norte del estado de Tamaulipas, se extrajo el ADN utilizando el método de precipitación con sales.

Las muestras fueron analizadas aplicando las condiciones previamente descritas para la PCR-multiplex (5) y en paralelo se determinó la presencia de anticuerpos utilizando la prueba de Rosa de Bengala (este análisis se llevó a cabo en el laboratorio de la Asociación Ganadera Local).

**Resultados y Discusión.** Los resultados de la PCR a partir de las muestras de sangre de bovino indicaron de acuerdo al patrón de amplificación la presencia de *Brucella abortus*, en seis de las 25 muestras evaluadas. Cuatro de estas muestras fueron corroboradas por la prueba de tarjeta, sin embargo, la presencia de una muestra PCR negativa/serología positiva, podría indicar

algunos de los problemas de inespecificidad encontrados en las pruebas serológicas.

En el caso de las muestras de cabras, 13 de las 45 muestras fueron positivas mientras que por serología (Rosa de Bengala 3%) se detectaron 15. En este caso solo se logró la detección del agente sin llegar a precisar la especie infectiva.

**Conclusiones.** Con los resultados generados en este estudio, se lograron establecer las condiciones para la detección diferencial de *Brucella* a partir de muestras de campo, lo cual sienta las bases para el diseño de un protocolo de validación de esta prueba .

### Referencias

- 1.- Consulta en línea. Programa de Sanidad Animal, SAGAR.
2. Corbel Michael J. 1997. Emergin Infectious Diseases. Consulta en línea (<http://www.inppaz.org.ar/MENUPAL/Bvirtual/ZNS/brucelo/corbel.htm>)
- 3.Garin-Bastuji B, Blasco JM, Grayon M, Verger JM. 1998. *Brucella melitensis* infection in sheep: present and future. *Vet Res*; 29(3-4):255-74.
4. Bercovich Z. 1998. Maintenance of *Brucella abortus*-free herds: a review with emphasis on the areas of low prevalence. *Vet Q.*; 20(3):81-
- 5.- Sifuentes-Rincón AM, Revol Agnès and Barrera-Saldaña HA.(1997) Detection and differentiation of the six *Brucella* species by Polymerase Chain Reaction. *Molecular Medicine*. 3:11:734-739.