

# **¿Por qué es necesario la tipificación de las cepas de *Brucella*?**

Edgardo Moreno  
Costa Rica

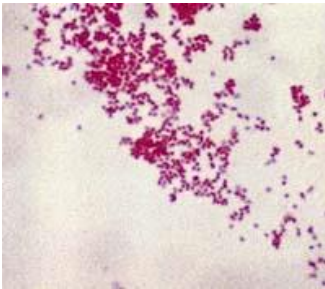
## ¿Por qué es necesario la tipificación de las cepas de *Brucella*?

- Para conocer las especies de brucelas que circulan, ya que estas se relacionan con sus hospederos y con la virulencia
- Para conocer las cepas de brucelas más prevalentes por región y hospedero
- Para detectar la dispersión y frecuencia de las cepas de *Brucella*
- Para detectar movimiento y desplazamiento de ganado
- Para detectar nuevas introducciones de especies y cepas de *Brucella* en el país y diferentes regiones
- Para dar seguimiento a las campañas de control y erradicación
- Para dar seguimiento a la fuente de zoonosis

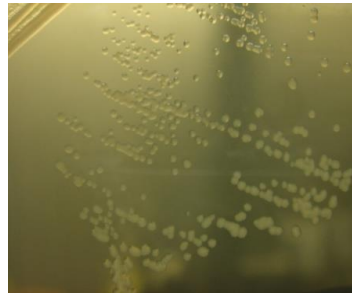
# Tipificación clásica

## Identificación de género

### Tinción de Gram



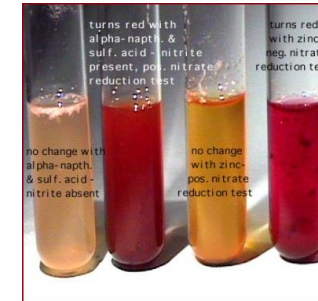
### Propiedades de crecimiento



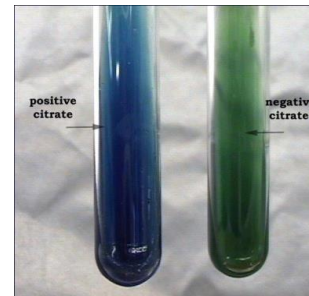
### Oxidasa



### Reducción de nitratos



### Utilización de citrato



## Diferenciación entre especies

Crecimiento en  
colorantes



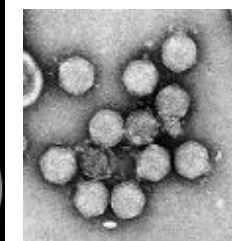
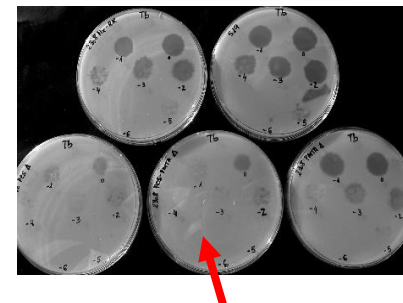
Actividad  
Ureasa



Producción de  
 $H_2S$

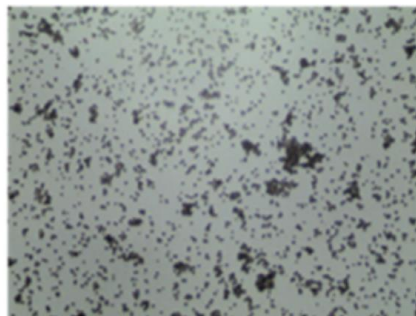


Tipificación  
con  
bacteriófagos



Aglutinación  
con A y M

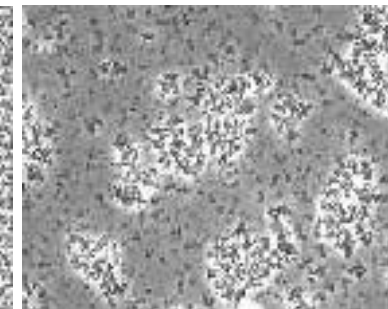
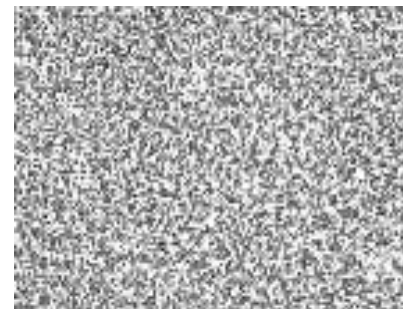
positive control



negative control



Aglutinación  
con AF y NA

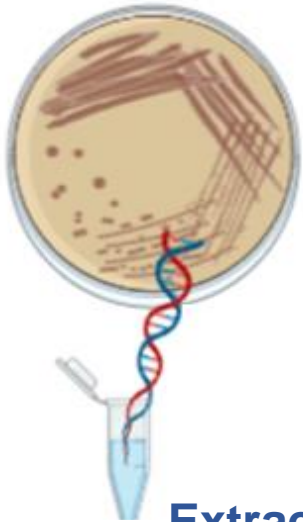


# Ventajas y desventajas de tipeo bacteriológico

- Laboriosidad alta
- Se necesitan muchos reactivos y medios
- Tiene una resolución media a baja, con variación entre laboratorios
- Existen bases de datos públicas
- Se requiere entrenamiento técnico relativamente alto
- Duración lenta (dos a tres semanas)
- Costo medio ~ 60 USD por cepa
- Utilidad baja a media: distingue, genero, especies y en ocasiones biotipos

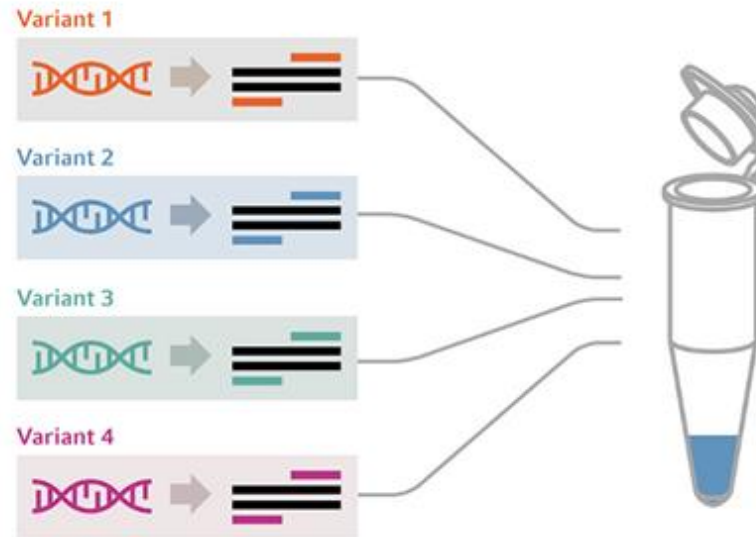
# PCR Multiplex Bruce-Ladder

# Cultivo

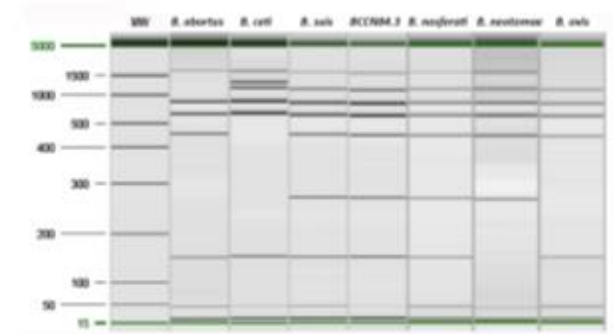


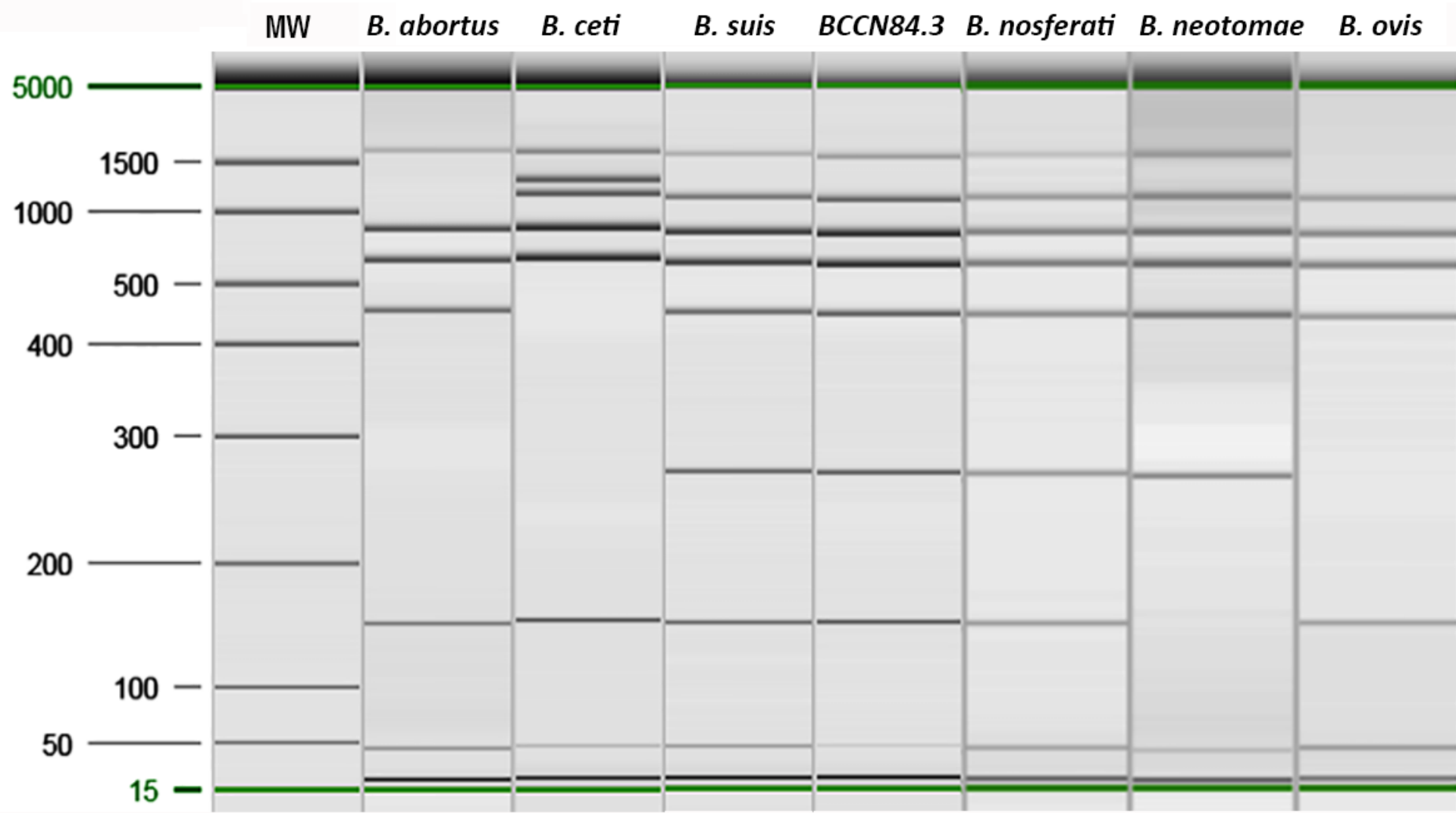
## Extracción de ADN

## PCR con mezcla de “primers”



## Análisis



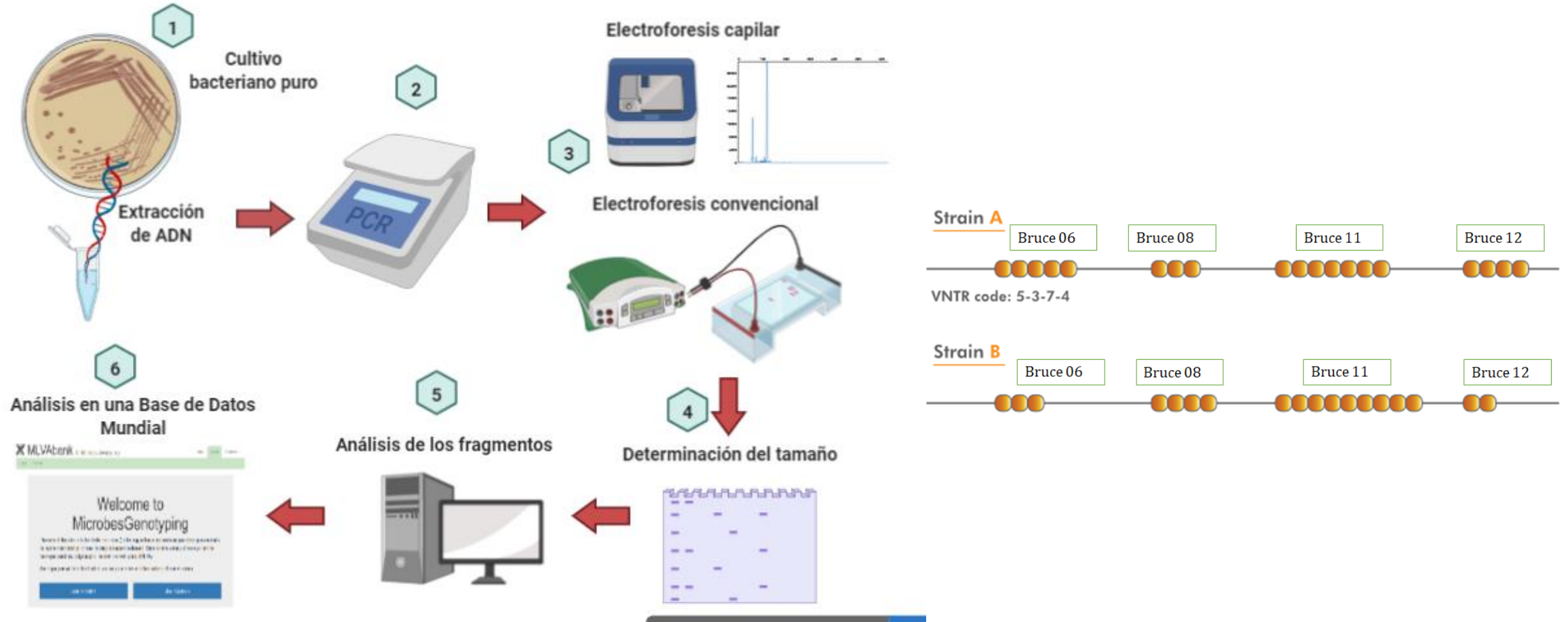


# Ventajas y desventajas del Bruce-Ladder

- Laboriosidad media, a menos que se tenga un equipo de electroforesis capilar
- Se necesitan varios tipos de imprimadores para distinguir cepas
- Se necesita entrenamiento técnico medio
- Tiene una resolución media para distinguir cepas, pero es fácil de interpretar
- Costo medio ~ 30 USD por cepa
- Es rápida (un día)
- Utilidad baja, distingue especies y algunos biotipos



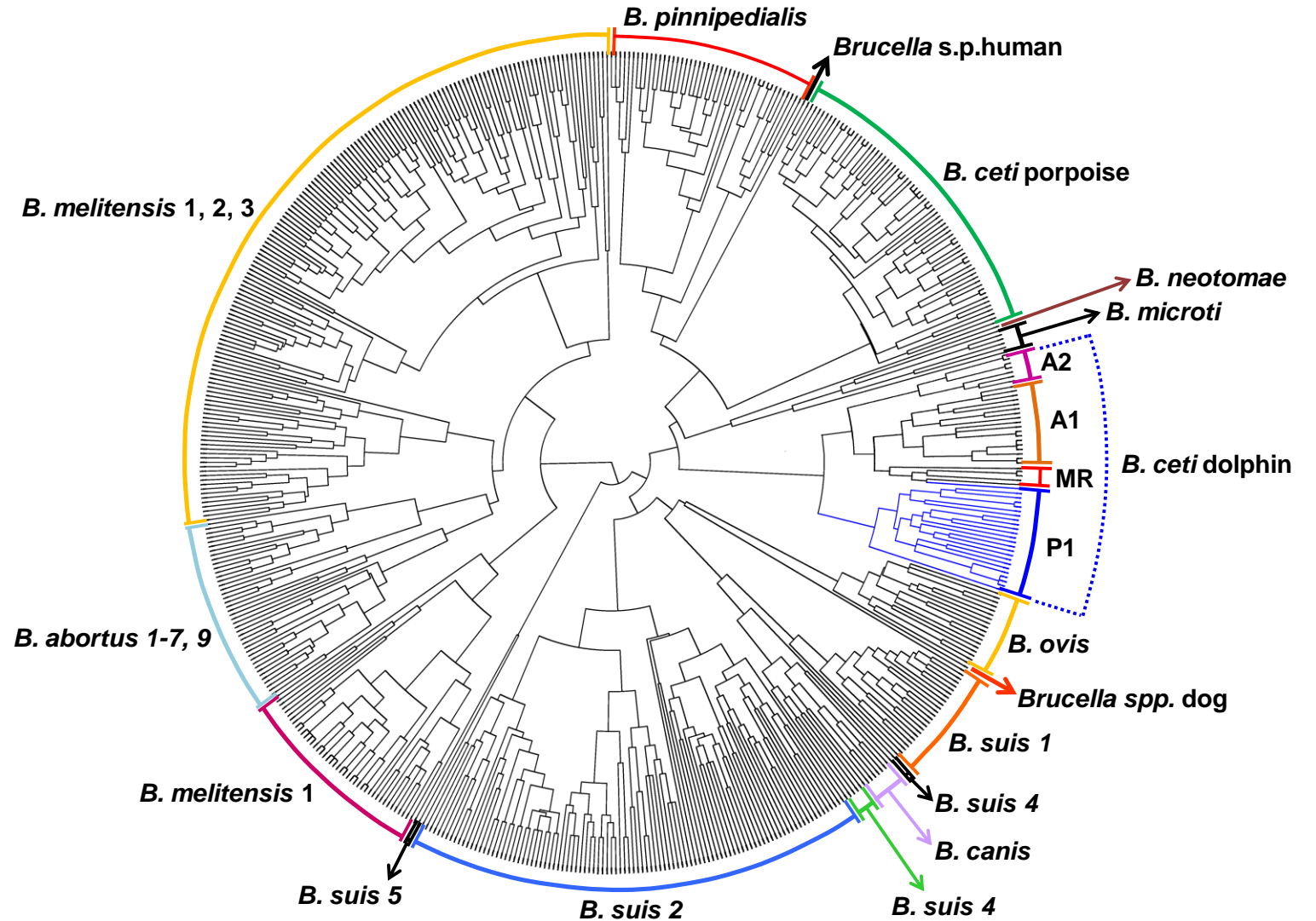
# MLVA-16 como herramienta de caracterización molecular de brucelas



# Tabla de datos de MLVA16

Specie	Bruce 06	Bruce 08	Bruce1 1	Bruce 12	Bruce 42	Bruce 43	Bruce 45	Bruce 55	Bruce 18	Bruce 19	Bruce 21	Bruce 04	Bruce 07	Bruce 09	Bruce 16
<i>B. inopinata</i>	2	5	9	13	3	2	5	4	0	40	0	10	0	3	3
<i>B. papionis</i>	2	5	0	16	2	2	5	3	6	36	9	2	2	3	5
<i>B. papionis</i>	2	5	0	16	2	2	5	3	6	36	9	2	2	3	4
<i>B. vulpis</i>	3	5	20	9	2	2	3	2	6	38	0	3	0	3	0
<i>B. ceti</i>	2	5	8	13	2	2	4	2	6	11	9	9	14	6	7
<i>B. ceti</i>	2	5	8	13	2	2	4	2	6	11	9	9	14	6	7
<i>B. neotomae</i>	4	5	4	13	4	3	5	1	6	41	9	3	6	3	6
<i>B. microti</i>	4	5	12	13	5	2	5	6	9	7	9	8	5	7	13
<i>B. pinnipedialis</i>	3	5	6	13	3	2	5	2	7	43	9	4	5	6	3
<i>B. pinnipedialis</i>	3	5	6	13	3	2	5	4	7	43	9	5	5	5	3
<i>B. melitensis</i>	1	5	3	13	2	2	3	2	4	41	8	6	4	3	5
<i>B. abortus bv1</i>	4	5	4	12	2	2	3	3	6	43	8	3	4	3	6
<i>B. abortus bv1</i>	4	5	4	12	2	3	3	3	6	43	8	3	7	3	3
<i>B. canis</i>	2	3	9	11	3	1	5	2	5	40	9	8	6	7	5
<i>B. canis</i>	2	3	9	11	3	1	5	2	5	40	9	5	5	7	8
<i>B. suis bv4</i>	0	5	8	9	5	1	5	0	5	38	9	0	0	0	0
<i>B. suis bv1</i>	2	3	6	10	4	1	5	2	4	38	9	6	6	5	5
<i>B. ovis</i>	0	5	2	10	1	1	5	0	3	7	9	6	0	8	0
<i>B. ovis</i>	3	5	2	10	1	1	5	2	3	7	9	6	7	7	6
<i>. B. neotomae</i>	4	5	4	13	4	3	5	1	6	42	9	3	4	3	6

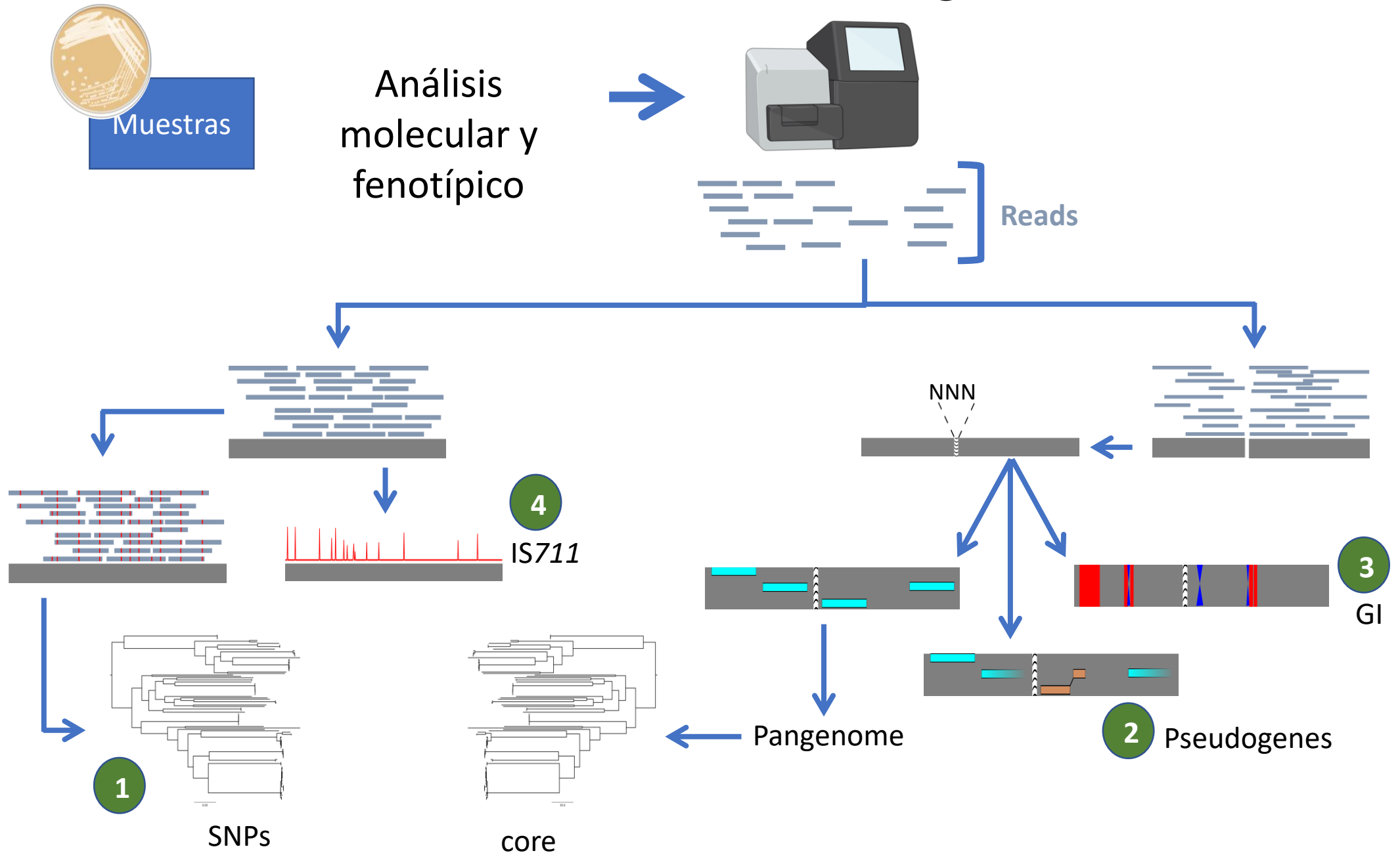
Dendrograma  
basado en el  
análisis por MLVA-  
16, de diferentes  
especies de  
*Brucella* y cepas.

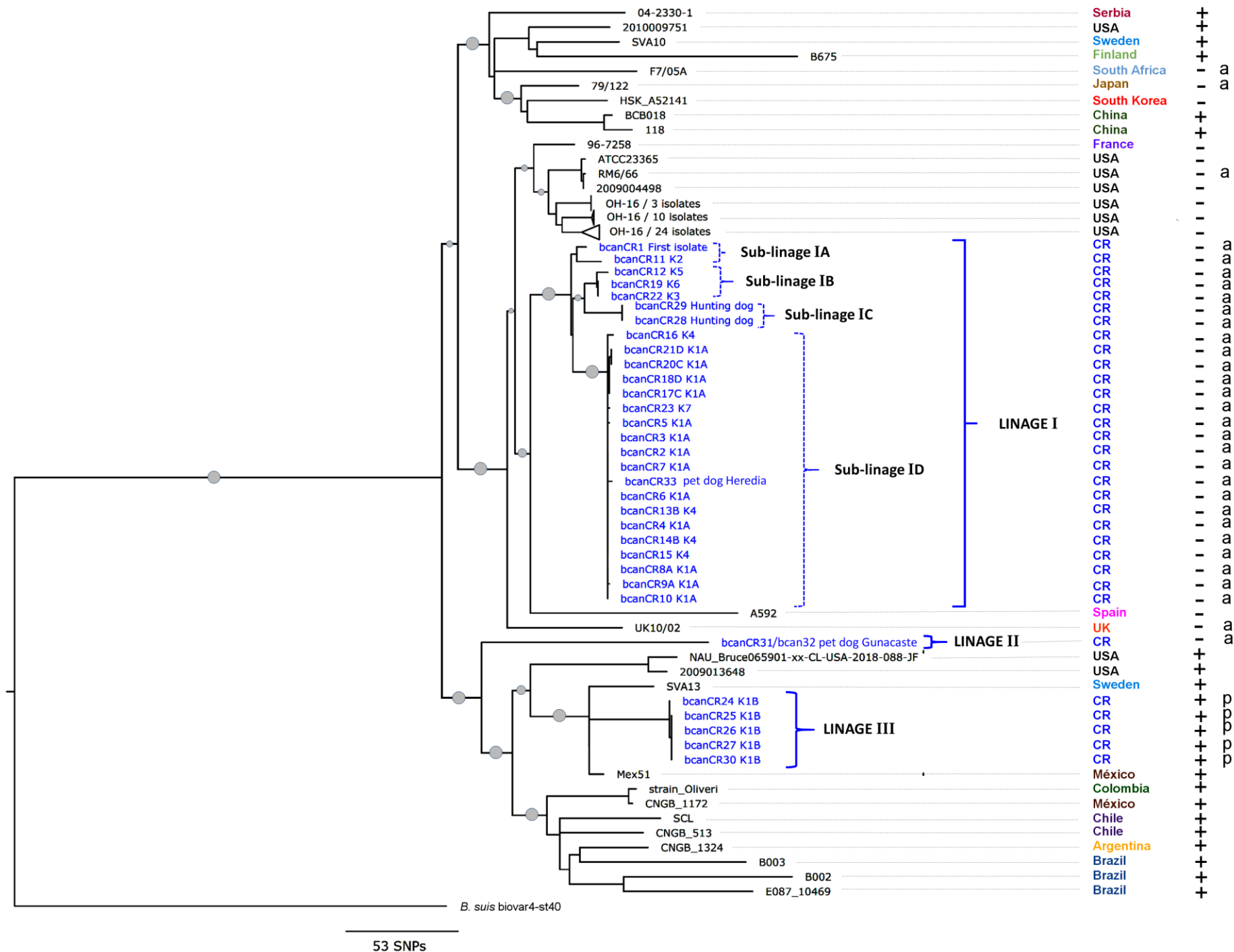


# Ventajas y desventajas del MLVA16

- Laboriosidad media
- Se necesitan 16 imprimadores diferentes
- Tiene una resolución alta
- Existen bases de datos públicas y se van creando
- Se requiere entrenamiento técnico y teórico medio
- Duración media (tres días)
- Costo medio ~ 40 USD por cepa
- Utilidad muy alta, se distinguen especies y cepas

# Secuenciación de todo el genoma

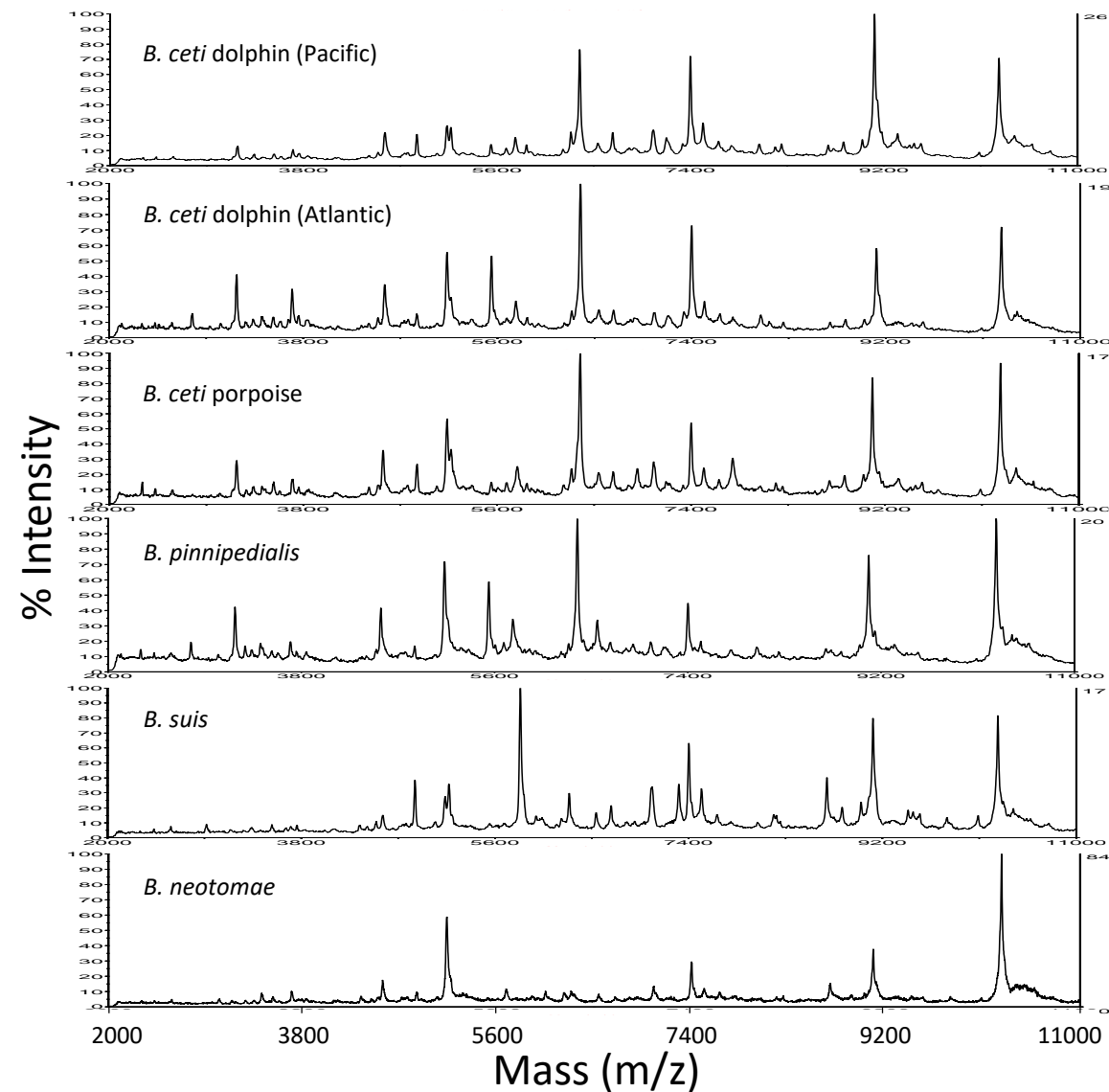
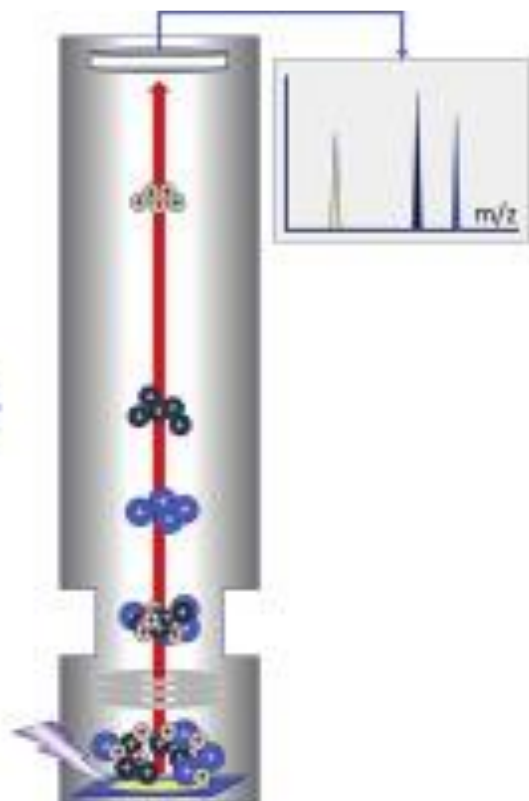




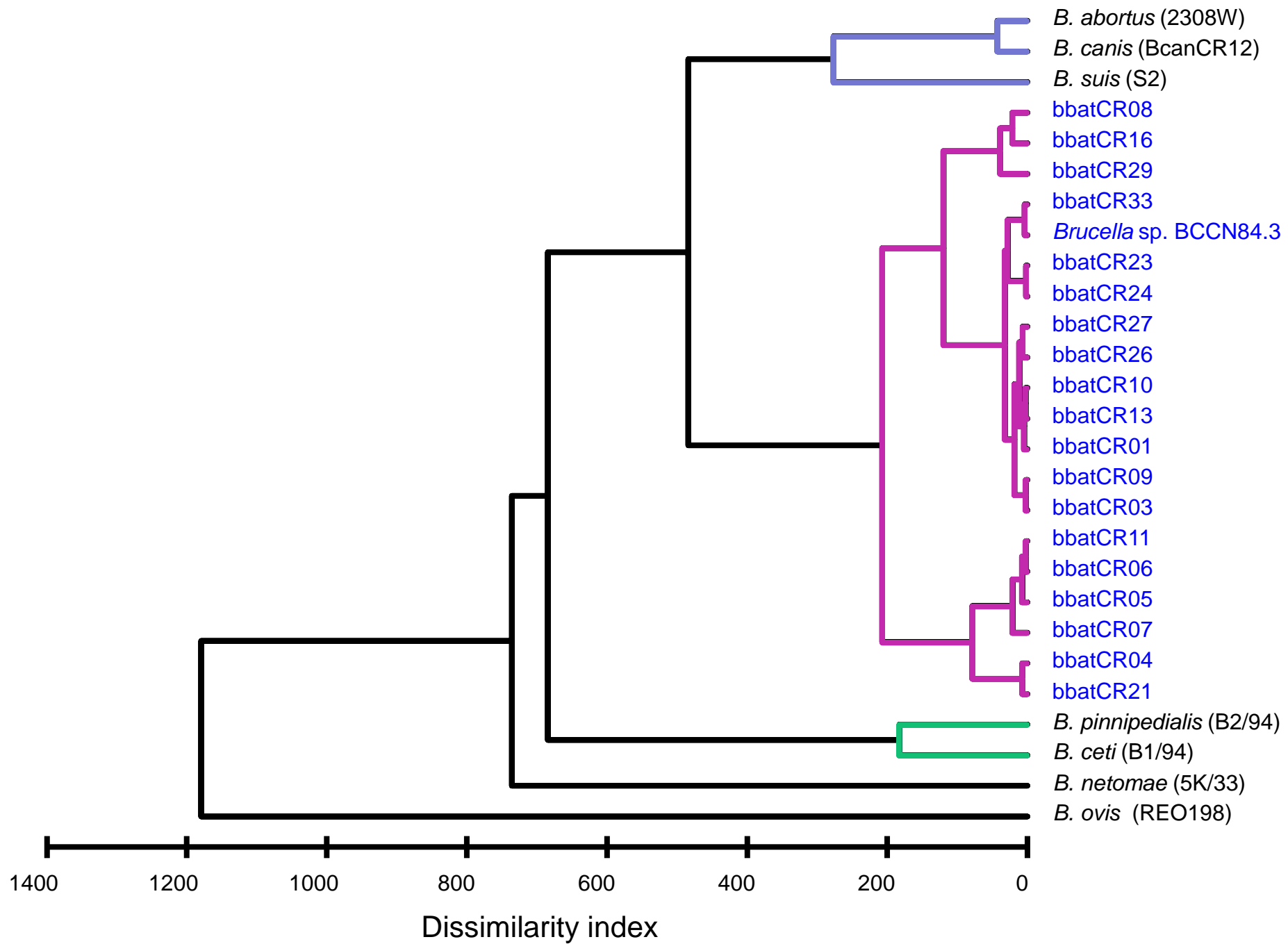
# Ventajas y desventajas de la secuenciación

- Laboriosidad baja (el aparato lo hace todo). Equipo muy especializado
- Tiene un resolución de 100% para distinguir cepas
- Existen bases de datos públicas amplias y se van creando
- Se requiere buen nivel de entrenamiento para interpretar los datos
- Es relativamente lenta (una a cuatro semanas)
- Costo medio ~ 40 USD por cepa ( si se manda a una compañía a secuenciar)
- Utilidad excepcional, distingue especies, cepas, dispersión y cambio

# Proteómica MALDI-TOF







# Ventajas y desventajas de la protémica Maldi-Tof

- Laboriosidad baja (el aparato lo hace todo). Equipo muy especializado
- Tiene una buena resolución para especies y algo menos para cepas
- Hay que crear la base de datos, pero existen algunas
- Se requiere entrenamiento para interpretar los datos
- Es muy rápida. En una a dos horas se obtienen los resultados
- Costo medio ~ 5-10 USD por cepa (lo costoso es el aparato, pero con uno basta)
- Utilidad buena, ya que se pueden distinguir especies y cepas