

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

Edgardo Moreno
Costa Rica

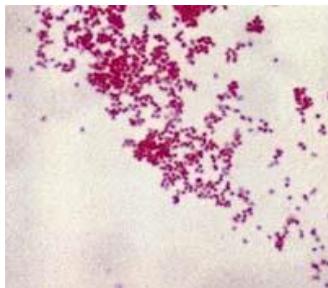
¿Por qué es necesario la tipificación de las cepas de *Brucella*?

- 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

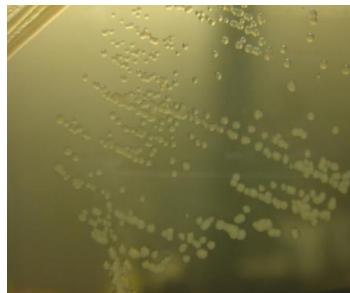
Tipificación clásica

Identificación de género

Tinción de Gram



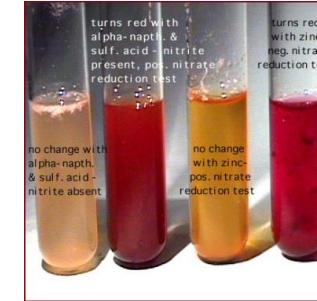
Propiedades de crecimiento



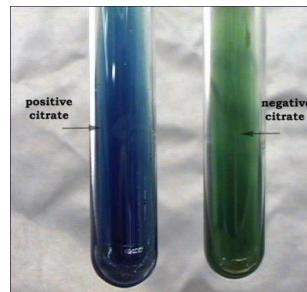
Oxidasa



Reducción de nitratos



Utilización de citrato



Diferenciación entre especies

Crecimiento en colorantes



Actividad Ureasa



Producción de H₂S

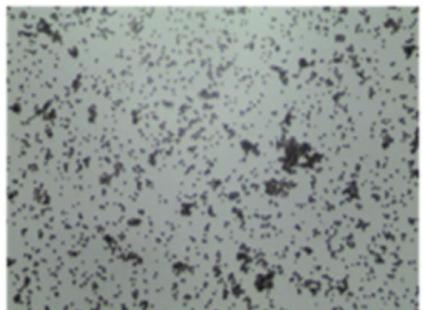


Tipificación con bacteriófagos

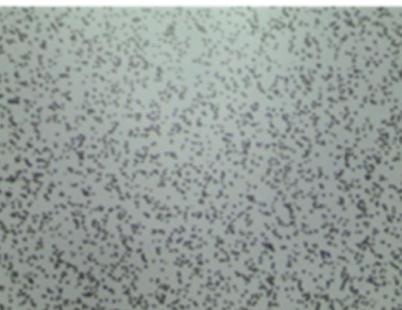


Aglutinación con A y M

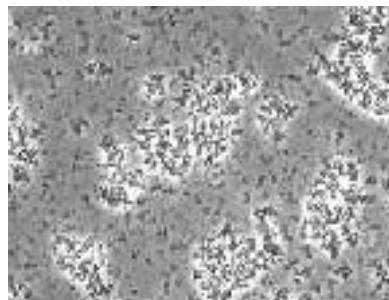
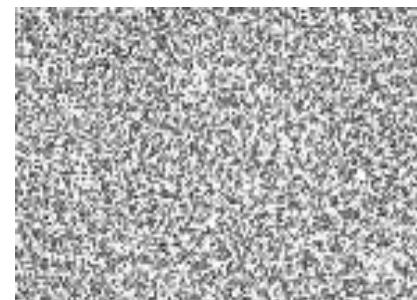
positive control



negative control



Aglutinación con AF y NA

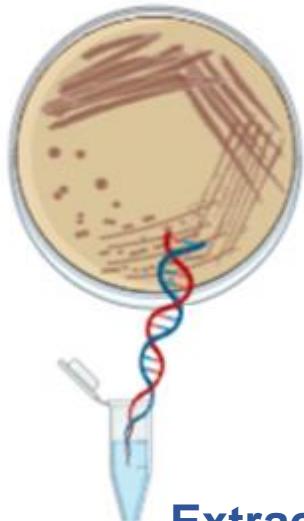


Ventajas y desventajas de tipeo bacteriológico

- 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

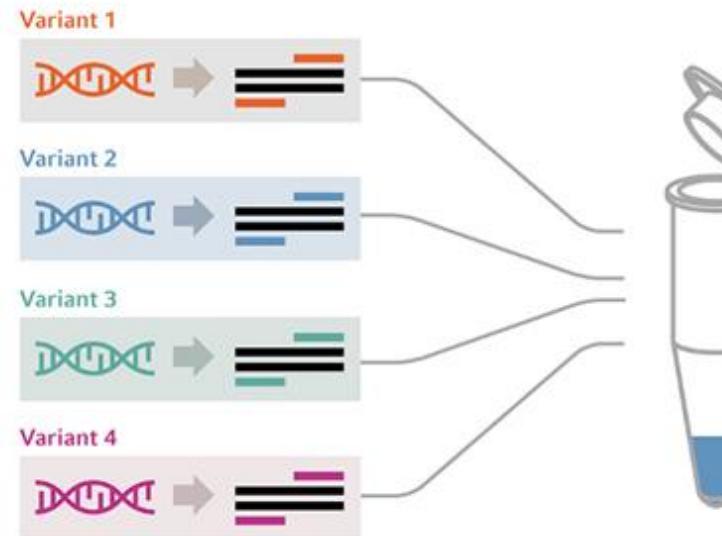
PCR Multiplex Bruce-Ladder

Cultivo

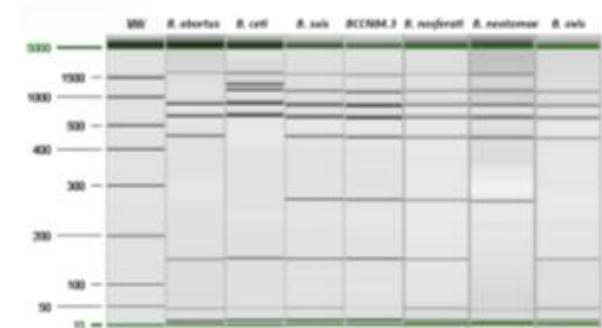


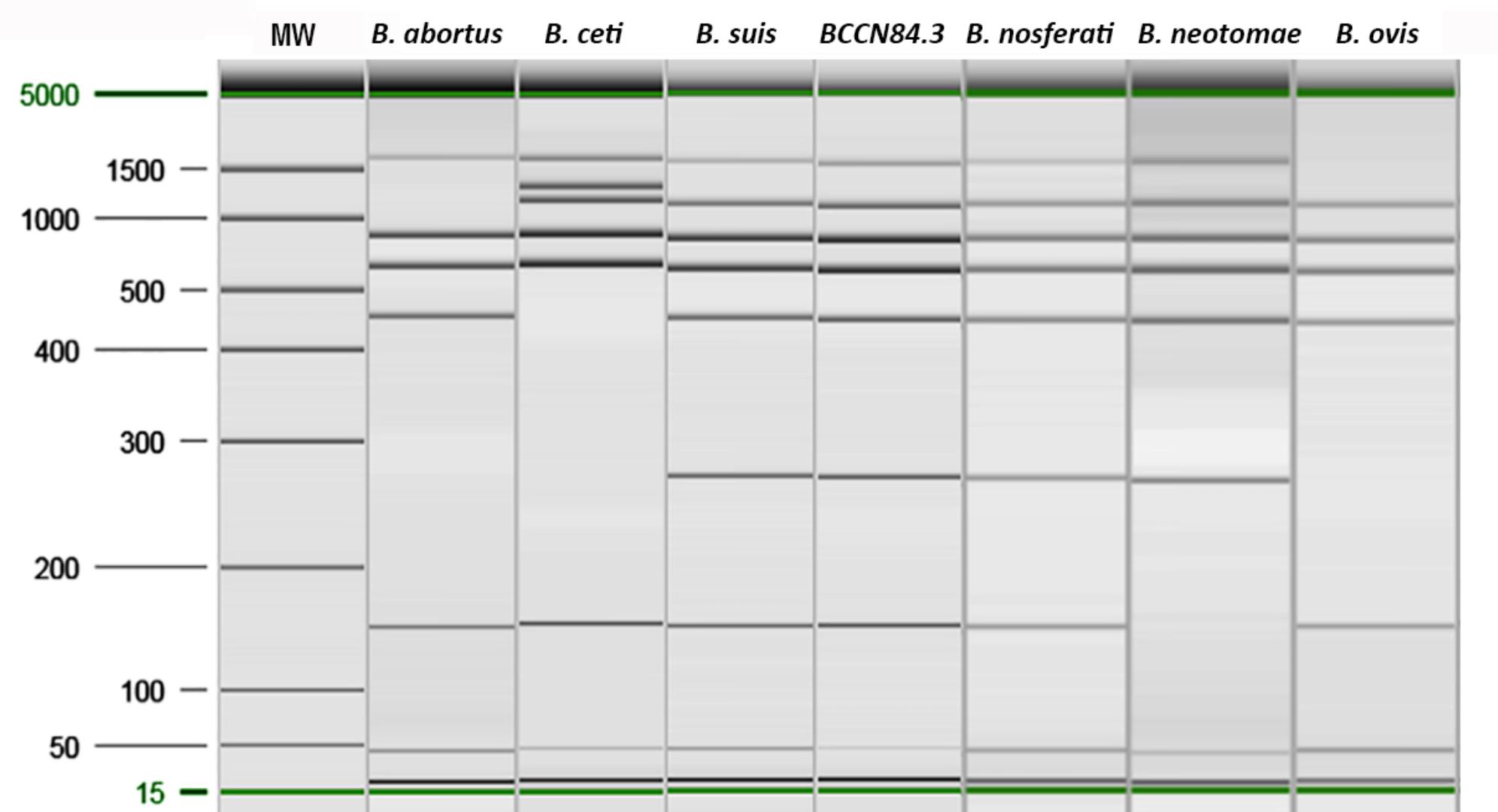
Extracción de ADN

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

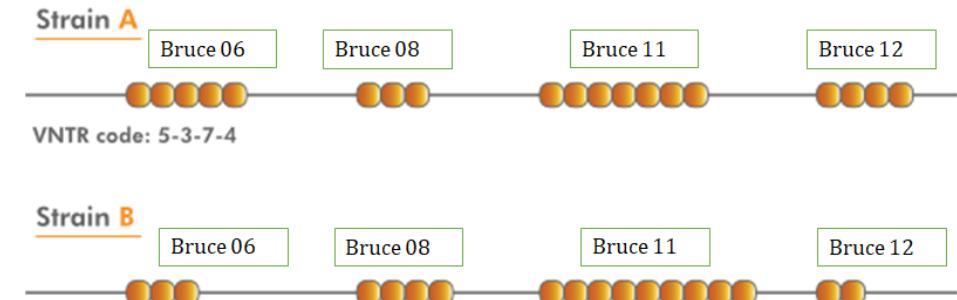
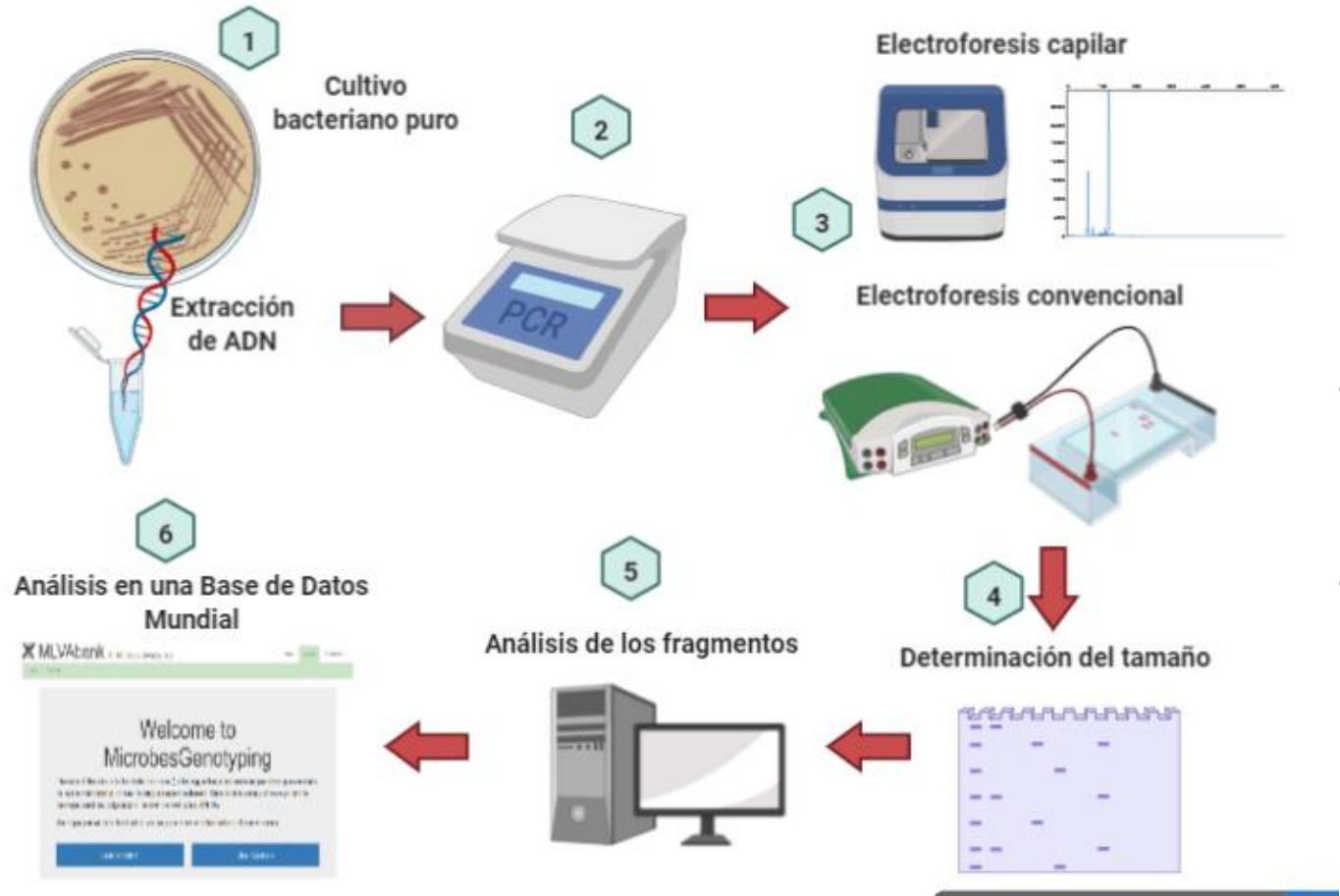
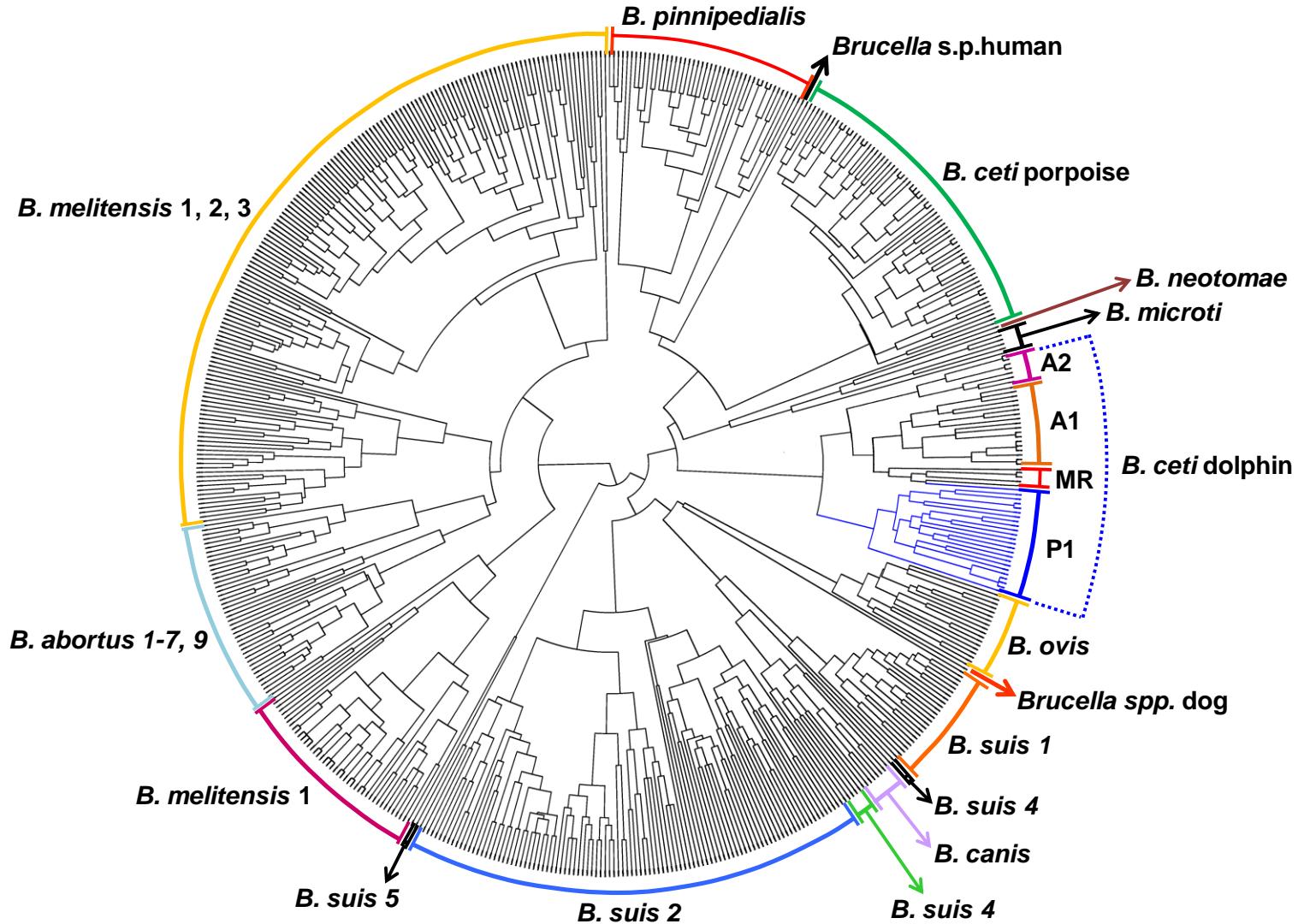


Tabla de datos de MLVA16

Species	Bruce 06	Bruce 08	Bruce 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

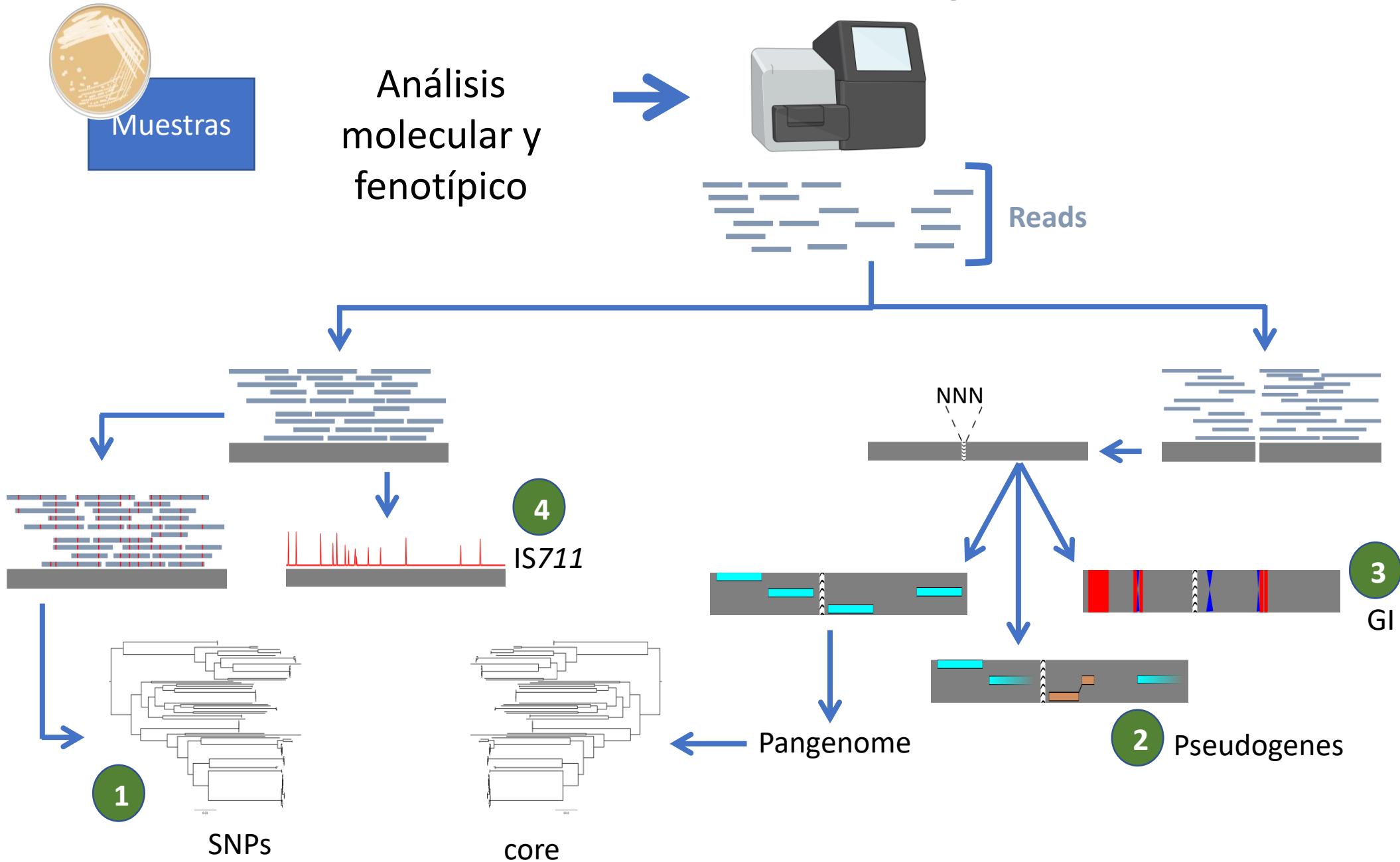
Dendrograma
basado en el
analisis por MLVA-
16, de diferentes
especies de
Brucella y cepas.

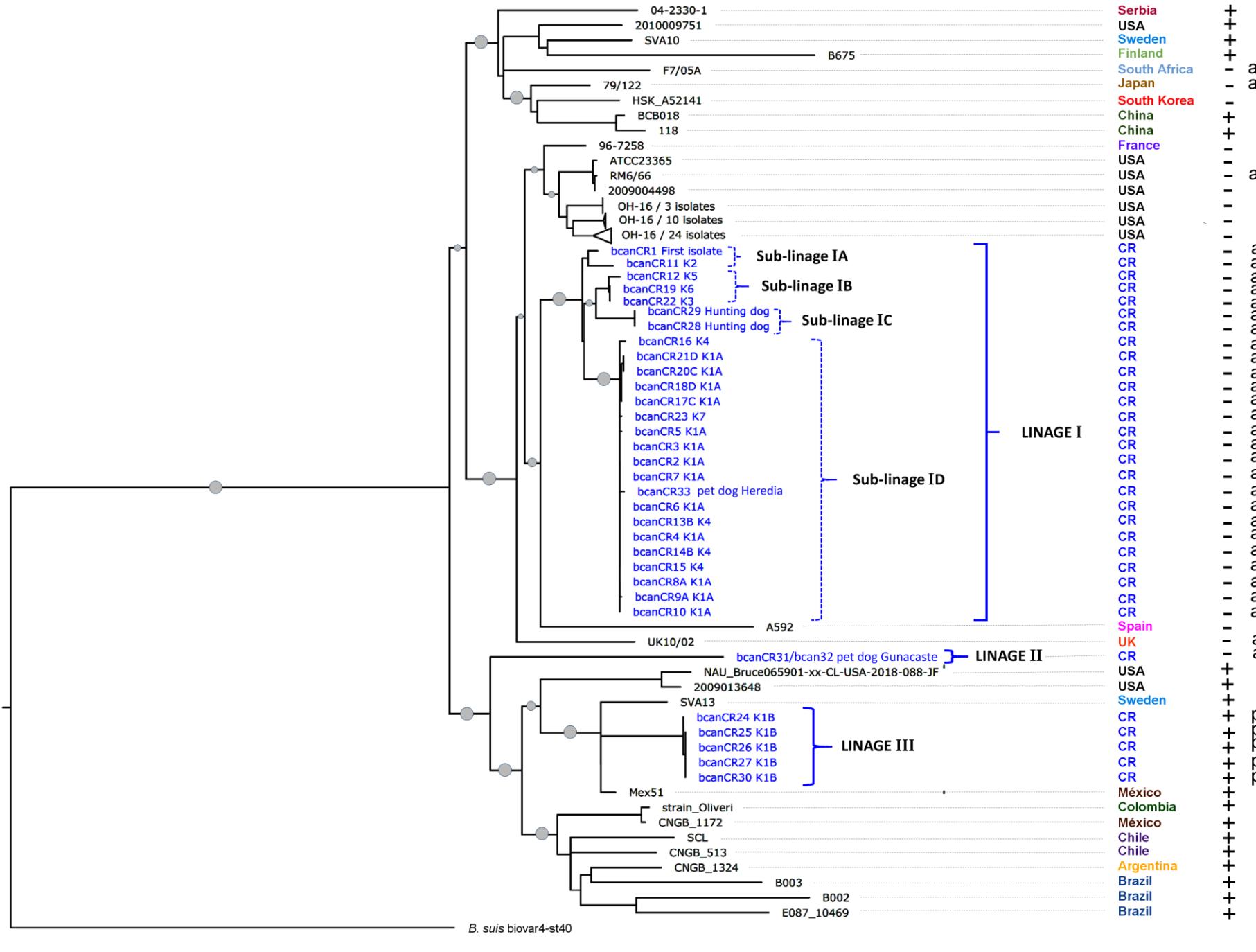


Ventajas y desventajas del MLVA16

- 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

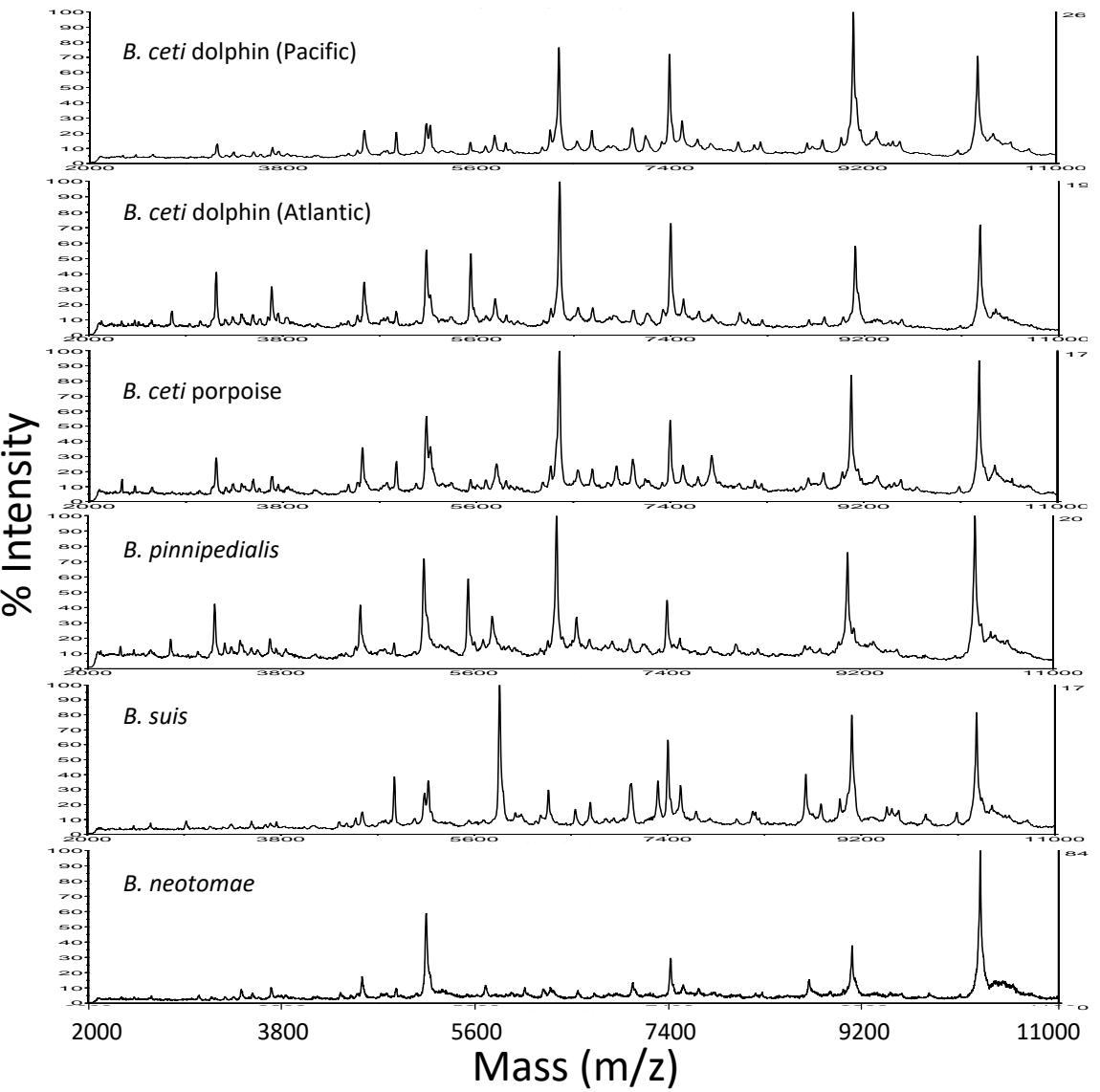
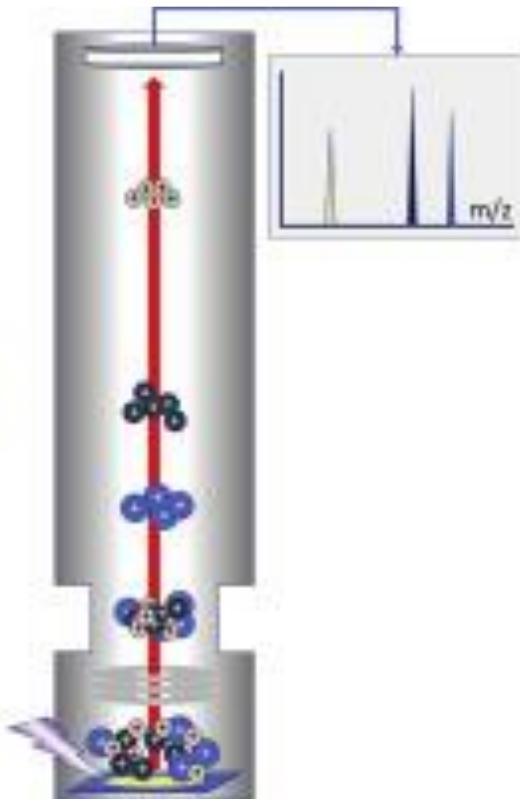


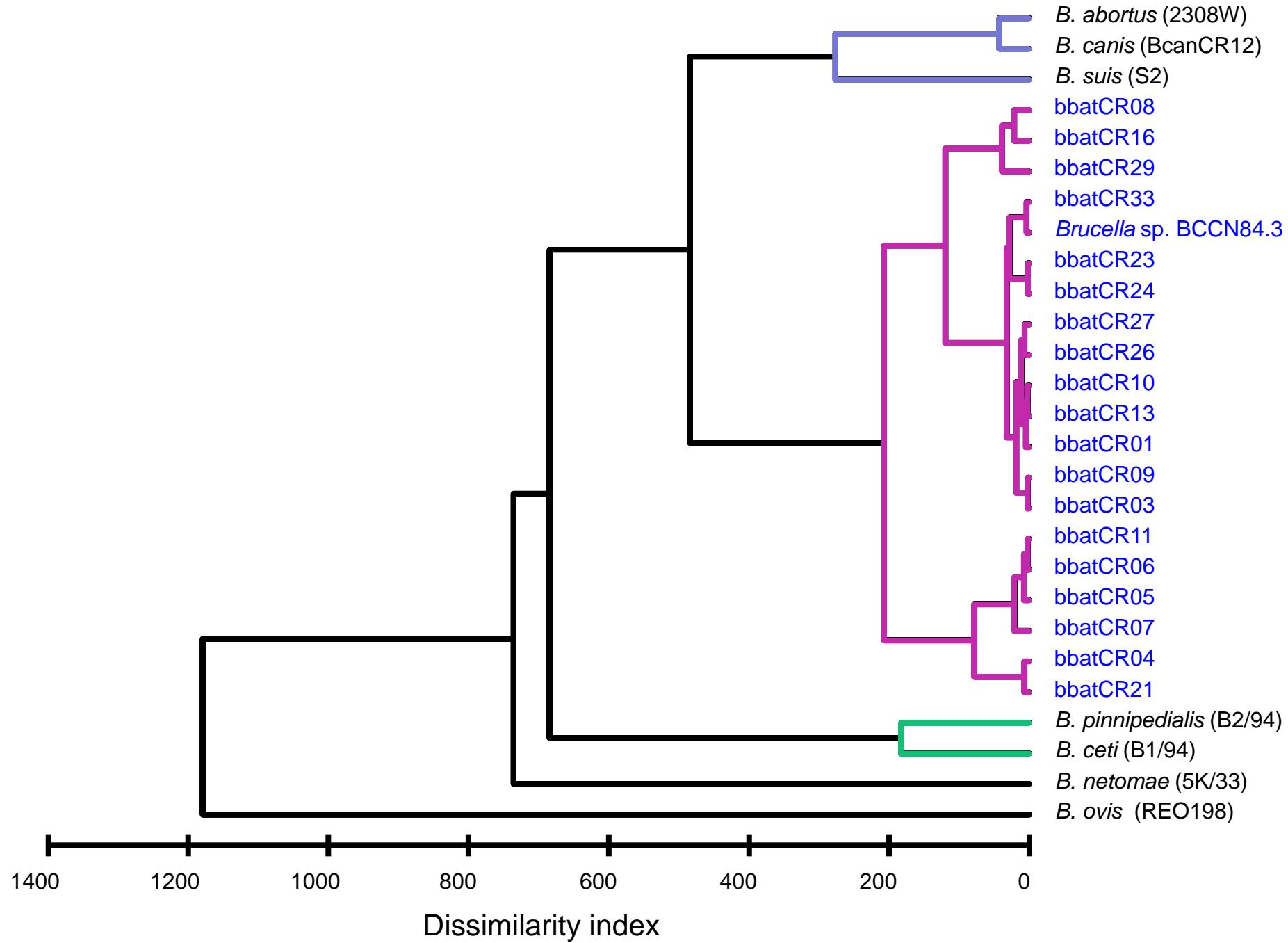


Ventajas y desventajas de la secuenciación

- 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 las bases 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