



REVISTA ARGENTINA DE MICROBIOLOGÍA

www.elsevier.es/ram



ORIGINAL

Caracterización de la variabilidad genética de cepas de campo de *Brucella canis* aisladas en Antioquia

Juana L. Vidal Arboleda^{a,*}, Luisa F. Ortiz Roman^b y Martha Olivera Angel^b

^a Grupo Vericel, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

^b Grupo Biogénesis, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

Recibido el 3 de agosto de 2016; aceptado el 12 de julio de 2017

PALABRAS CLAVE

Inserciones;
Delecciones;
Indels;
Reloj molecular

Resumen *Brucella canis*, un patógeno intracelular facultativo, es responsable de la brucelosis canina, una enfermedad zoonótica que afecta a los caninos y al hombre. En los primeros causa abortos y fallas reproductivas; en el ser humano genera síntomas inespecíficos. En el año 2005 se demostró la presencia de *B. canis* en Antioquia (Colombia). Las cepas halladas se identificaron como tipo 2. La secuenciación del genoma completo de una cepa de campo denominada *Brucella canis* str. Oliveri mostró indels específicos de especie; a partir de estos se buscó conocer características genómicas de las cepas de *B. canis* aisladas y establecer relaciones filogenéticas, así como el tiempo de divergencia de la cepa Oliveri. Se realizó PCR convencional y secuenciación de 30 cepas de campo, se identificaron 5 indels reconocidos en *B. canis* str. Oliveri, se empleó ADN de *Brucella suis*, *Brucella melitensis* y cepas vacunales de *Brucella abortus* como controles. Se determinó que las cepas de campo estudiadas comparten 4 de los 5 indels de la cepa Oliveri, lo que indica la presencia de más de una cepa de *B. canis* circulando en la región. El análisis filogenético se realizó con 24 cepas de *Brucella* mediante secuencias concatenadas de genes marcadores de especie. Se probó la hipótesis del reloj molecular y adicionalmente se realizó test de tasas relativas de Tajima. De esta manera se demostró que la cepa Oliveri, al igual que las otras cepas de *B. canis* analizadas, divergen de *B. suis*. Se rechazó la hipótesis del reloj molecular entre las especies de *Brucella* y se demostró una tasa de evolución y una distancia genética similar entre las cepas de *B. canis*.

© 2017 Asociación Argentina de Microbiología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: luifernanda@gmail.com (J.L. Vidal Arboleda).

<https://doi.org/10.1016/j.ram.2017.07.006>

0325-7541/© 2017 Asociación Argentina de Microbiología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Cómo citar este artículo: Vidal Arboleda JL, et al. Caracterización de la variabilidad genética de cepas de campo de *Brucella canis* aisladas en Antioquia. Rev Argent Microbiol. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2017.07.006>

KEYWORDS

Insertions;
Deletions;
Indel events;
Molecular clock

Characterization of the genetic variability of field strains of *Brucella canis* isolated in Antioquia

Abstract *Brucella canis* is a facultative intracellular pathogen responsible for canine brucellosis, a zoonotic disease that affects canines, causing abortions and reproductive failure; and the production of non-specific symptoms in humans. In 2005 the presence of *B. canis* in Antioquia was demonstrated and the strains were identified as type 2. The sequencing of the genome of a field strain denoted *Brucella canis* str. Oliveri, showed species-specific indel events, which led us to investigate the genomic characteristics of the *B. canis* strain isolated and to establish the phylogenetic relationships and the divergence time of *B. canis* str. Oliveri. Conventional PCR sequencing was performed in 30 field strains identifying 5 indel events recognized in *B. canis* str. Oliveri. ADN from *Brucella suis*, *Brucella melitensis* and vaccine strains from *Brucella abortus* were used as control, and it was determined that all of the studied field strains shared 4 out of the 5 indels of the sequenced Oliveri strain, indicating the presence of more than one strain circulating in the region. Phylogenetic analysis was performed with 24 strains of *Brucella* using concatenated sequences of genetic markers for species differentiation. The molecular clock hypothesis and Tajima's relative rate test were tested, showing that the Oliveri strain, similarly to other *canis* species, diverged from *B. suis*. The molecular clock hypothesis between *Brucella* species was rejected and an evolution rate and a similar genetic distance between the *B. canis* were demonstrated.

© 2017 Asociación Argentina de Microbiología. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introducción

Brucella canis, un patógeno intracelular facultativo, es responsable de la brucelosis canina, una enfermedad zoonótica que afecta a los caninos y que causa abortos y fallas reproductivas en las hembras, y orquitis y epididimitis en los machos². En el humano se puede presentar la infección y producir cuadros clínicos leves, asintomáticos o graves^{22,24,47}.

En Colombia se ha observado una seropositividad en caninos de entre el 1,49 y el 27,7, y fue del 9,1% en humanos^{9,17,33,36}.

Hasta ahora, el análisis realizado a 30 cepas de *B. canis* aisladas de animales infectados demostró que las cepas circulantes son *B. canis* tipo 2³⁵. Se secuenció el genoma completo de una de las cepas aisladas de campo denominada *Brucella canis* str. Oliveri (HG803175.1-HG803176.1). En dicha cepa se reconocieron inserciones y delecciones específicas de especie, que se encuentran vinculadas con la síntesis de diferentes proteínas, algunas encargadas del transporte de nutrientes y aminoácidos, otras ribosomales y epimerasas, y algunas sin función conocida⁴¹. Tales cambios se pueden relacionar con la adaptación de la bacteria a su hospedero y al ambiente, con pérdida de material genético o producción de polimorfismos genéticos.

Para analizar la evolución del género *Brucella* se han desarrollado múltiples análisis filogenéticos. Existe consenso en separar en un clado las especies *Brucella melitensis* y *Brucella abortus*; otro clado está formado por las especies marinas, y se encuentra más relacionado con *Brucella neotomae*; otro clado lo conforman las especies *Brucella suis* y *B. canis*^{14,29}. Se ha reconocido a *Brucella ovis* como la especie más ancestral de todas, y se ha planteado que el

contagio inicial de cerdos, cabras y ganado vacuno se originó del contacto con ovejas infectadas, de 86.000 a 296.000 años atrás¹⁶.

B. canis siempre se ha encontrado formando parte del clado donde se halla *B. suis*, con altas similitudes, lo que en ocasiones llevó a diagnósticos errados (al considerar a esta como un miembro de la especie *suis*)¹⁹. Sobre la base de estos hallazgos se buscó conocer la filogenia y el ancestro evolutivo de la cepa de *B. canis* str. Oliveri en comparación con otras cepas de *B. canis* y con otras especies reconocidas dentro del género; además, se buscó determinar si esta es la única cepa que se encuentra circulando en toda la región, lo cual podría facilitar el desarrollo de estudios en epidemiología molecular de la bacteria.

Materiales y métodos

Para observar si las delecciones e inserciones reportadas en la cepa *B. canis* str. Oliveri estaban o no presentes en las 30 cepas de campo de *B. canis* reunidas, la metodología empleada fue la que se describe a continuación.

Cepas bacterianas

Las cepas fueron provistas por el grupo de investigación Biogénesis de la Universidad de Antioquia (Colombia) y confirmadas como *B. canis* por el Instituto Malbrán (Argentina); todas ellas fueron conservadas a -70°C .

La activación de las cepas se realizó en 5 ml de caldo tripticosa soja, con incubación a 37°C durante 24 h. Desde allí fueron repicadas en agar tripticosa soja e incubadas a 37°C durante 36-48 h. Se realizó confirmación de la pureza de las cepas por medio de coloración de Gram. Adicionalmente se

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/8844381>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/8844381>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)