

tos amplificados son más claramente definidos que el testigo positivo mismo (ADN aislado de *Brucella abortus*); esto se puede deber a que el ADN bacteriano obtenido de las muestras de campo proviene de células intactas mientras que el obtenido de *B. abortus* proviene del antígeno (células lisadas por calor) utilizado en pruebas serológicas. El "barrido de fondo" observado proviene de polimeraciones truncadas o inespecíficas debido a la degradación del ADN. También existe la posibilidad de que el antígeno haya sido preparado a partir de una mezcla de cepas bacterianas en las cuales pudiera existir alguna variación minúscula en las secuencias nucleotídicas (de las diferentes cepas) que no sean 100% homólogas a los iniciadores aquí utilizados. Esta observación es apoyada por la desaparición progresiva del "barrido de fondo" conforme al aumento de las temperaturas de anillamiento en RCPs realizadas con ADN de *B. abortus* (datos no presentados).

Los bovinos mostrados aquí pertenecían al mismo hato por lo que la alta incidencia del patógeno no debe ser sorpresa debido al hacinamiento en que generalmente se encuentran los animales. Los abortos, heces y demás fluidos de animales enfermos con brucelosis que son diseminados en las áreas donde los animales están confinados son, sin lugar a dudas, focos de infección en la transmisión del patógeno [Huddleson, 1944; Castenada, 1947; Escarzaga, 1975; Nicoletti, 1980; Nicoletti, 1982; Kolar, 1987; De la Morena Fernández, 1992].

Dos muestras sanguíneas resultaron negativas para la presencia del *B. abortus*. Las muestras (figura 2, carriles a y o) son definitivamente negativas y ninguna amplificación puede ser detectada, comportándose en forma muy similar a la observada para los testigos negativos (figura 2, carriles t y u). Nuevamente es posible detectar que no se observó amplificación definida en los carriles correspondientes a *B. melitensis* y *B. ovis*.



**Figura 2.** Detección de *Brucella abortus* a partir de muestras sanguíneas de bovinos lecheros. a-k y o-s son el resultado de la RCP utilizando el ADN extraído de bovinos; l, m y n son el resultado de la RCP utilizando ADNs de *B. abortus*, *B. melitensis* y *B. ovis*, respectivamente; t y u son el resultado de la RCP utilizando ADN humano y de *E. coli*, respectivamente. X es el marcador de peso molecular (PBR322 digerido con *A*lu I).

Aproximadamente solo el 50% de los bovinos había sido detectado serológicamente positivo, para la presencia de anticuerpos contra *B. abortus*, por lo que los resultados aquí mostrados son incompatibles con esas observaciones. Sin embargo, dada la variabilidad en especificidad y sensibilidad de las pruebas serológicas, donde algunos casos la falta de especificidad puede resultar de reacciones cruzadas debidas a la presencia de otras bacterias no siempre relacionadas con la especie [Perry y Bundle, 1990] o anticuerpos de animales previamente vacunados, aunado a la extremadamente alta especificidad y sensibilidad de la RCP, es válido arguir que los resultados aquí reportados pudieran considerarse de mayor validez.

Sin lugar a dudas, la RCP es una herramienta muy poderosa en una amplia gama de estudios biotecnológicos y de Biología Molecular por lo que su uso no debe ser

descriminado en el diagnóstico de enfermedades infecciosas. De hecho, la RCP ha sido utilizada exitosamente en la detección de enfermedades infecciosas de animales [Lebech y Hansen, 1992; van der Giessen *et al.*, 1992] y humanos [Aurelius *et al.*, 1991; Burstain *et al.*, 1991; Lebech y Hansen, 1992]. Más aún, su uso ya ha sido intentado en la detección de *Brucella abortus* con resultados parcialmente positivos ya no ha sido factible su implementación definitiva en campo [Fekete *et al.*, 1992]. Los resultados exitosos aquí descritos constituyen el primer reporte mundial de una detección confiable del patógeno *Brucella abortus* a partir de muestras de campo y sienta las bases para la implementación de una técnica de diagnóstico masivo en apoyo a las campañas nacionales de erradicación de las brucelosis en humanos y animales de importancia pecuaria.