

**Series: Producción Animal  
Comunicaciones Técnicas  
ISSN 1667-4014**

**COMUNICACION TECNICA N°645**

**AREA PRODUCCIÓN ANIMAL**

**Protocolo de PCR para la detección de  
*Brucella melitensis* y REV-1**

**Dra. Lucía Paula Alvarez  
MV, MSc Carlos Alejandro Robles**

**2016**

■ **Ediciones**

Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria Centro  
Regional Patagonia Norte  
Estación Experimental Agropecuaria Bariloche. "Dr. Grenville Morris"



# Protocolo de PCR para la detección de *Brucella melitensis* y REV-1

Dra. Lucía Paula Alvarez  
MV, MSc Carlos Alejandro Robles  
Grupo de Salud Animal – INTA  
CC: 277 (8400) Bariloche  
e-mail: alvarez.lucia@inta.gob.ar  
e-mail: robles.carlos@inta.gob.ar

Primers utilizados:

REV Fw 5' CAG GCA AAC CCT CAG AAG C 3'

REV Rv 5' GAT GTG GTA ACG CAC ACC AA 3'

Amplifican un de 218 pb en REV-1.

Cita: Garcia-Yoldi, D., et al., Multiplex PCR assay for the identification and differentiation of all *Brucella* species and the vaccine strains *Brucella abortus* S19 and RB51 and *Brucella melitensis* Rev1. *Clin Chem*, 2006. 52(4): p. 779-81.

Bmel Fw 5' TGC CGA TCA CTT AAG GGC CTT CAT 3'

Bmel Rv 5' AAA TCG CGT CCT TGC TGG TCT GA 3'

Amplifican un de 731 pb en REV-1 y *B. melitensis*.

Cita: Bricker, B.J. and S.M. Halling, Differentiation of *Brucella abortus* bv. 1, 2, and 4, *Brucella melitensis*, *Brucella ovis*, and *Brucella suis* bv. 1 by PCR. *J Clin Microbiol*, 1994. 32(11): p. 2660-6.

La mezcla de PCR contiene 200  $\mu$ M de dNTPs, 2 mM de  $MgCl_2$ , *Buffer* 1X, 0.5  $\mu$ M de los primers REV, 0.1  $\mu$ M de los primers Bmel, 0.05 U/  $\mu$ l de Taq ADN polimerasa y 1  $\mu$ l de ADN (100-500 ng) en un volumen final de 25  $\mu$ l.

	<b>µl/tubo</b>			
Primer REV F (25mM)	0.5	MIX	24 µl	<b>ciclo</b>
Primer REV R (25mM)	0.5	ADN	1 µl	95 °C 5 min
Primer Bmel R (25mM)	0.1			95 °C 5 min
Primer Bmel R (25mM)	0.1			95 °C 30 seg X30
dNTPs (10mM)	0.5			64 °C 1 min
Buffer (5X)	2,5			72 °C 1 min
Mg <sup>++</sup> (50mM)	1			72 °C 5 min
H2O	18.55			
<u>Taq pol (5U/ml)</u>	<u>0.25</u>			
Total	24			

**Nota: Si Ud. usa este protocolo, no olvide citarlo en la bibliografía de la siguiente manera:**  
 Alvarez L. P.; Robles, C.A.- Protocolo de PCR para la detección de *Brucella melitensis* y REV-1.  
 Comunicación Técnica, Area Producción Animal, INTA Bariloche, ISSN 1667-4006.