

Series: Producción Animal
Comunicaciones Técnicas
ISSN 1667-4014

COMUNICACION TECNICA N°646
AREA PRODUCCIÓN ANIMAL

Protocolo de PCR para la detección de
Brucella ovis, Histophilus somni y
Actinobacillus seminis

Dra. Lucía Paula Alvarez
MV, MSc Carlos Alejandro Robles
2016

■ Ediciones
■ 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 ovis*, *Histophilus somni* y *Actinobacillus seminis*

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

Adaptado de

Primers utilizados correspondientes al gen BOV_A0500 de *B. ovis*, tomados de: Tsolis, R.M., Seshadri, R., Santos, R.L., Sangari, F.J., Lobo, J.M., de Jong, M.F., Ren, Q., Myers, G., Brinkac, L.M., Nelson, W.C., Deboy, R.T., Angiuoli, S., Khouri, H., Dimitrov, G., Robinson, J.R., Mulligan, S., Walker, R.L., Elzer, P.E., Hassan, K.A., Paulsen, I.T., 2009. Genome degradation in *Brucella ovis* corresponds with narrowing of its host range and tissue tropism. PLoS One. 4, e5519.

Primers utilizados correspondientes a *H. somni* y *A. seminis* tomados de: Moustacas, V.S., Silva, T.M., Costa, L.F., Xavier, M.N., Carvalho, C.A., Jr., Costa, E.A., Paixao, T.A., Santos, R.L., 2013. Species-specific multiplex PCR for the diagnosis of *Brucella ovis*, *Actinobacillus seminis*, and *Histophilus somni* infection in rams. BMC Vet Res. 9, 51.

A0500 Fw: 5'-TGGTATCTTCAGCCGTTCCAAG-3'

A0500 Rv: 5'-ATCTTTGCCCCGTTTCAGTCG-3'

H. somni Fw: 5'-GAAGGCGATTAGTTTAAGAG-3'

H. somni Rv: 5'-ACTCGAGCGTCAGTATCTTC-3'

A. seminis Fw: 5'-CTTATCTTTCTTAAGCCCTGAC-3'

A. seminis Rv: 5'-AAGAAAAAGACGAAGAGACATT-3'

PCR adaptada de Moustacas, V.S., Silva, T.M., Costa, L.F., Xavier, M.N., Carvalho, C.A., Jr., Costa, E.A., Paixao, T.A., Santos, R.L., 2013. Species-specific multiplex PCR for the diagnosis of *Brucella ovis*, *Actinobacillus seminis*, and *Histophilus somni* infection in rams. BMC Vet Res. 9, 51.

La mezcla de reacción contiene 200 µM de cada dNTP, 0.8 µM de cada primer, 2 mM de Mg²⁺, 1.25 U de Taq ADN polimerasa y 100 ng de ADN en un volumen final de 25 µL.

	μl/tubo			
Primer F (25mM)	0.8			
Primer F (25mM)	0.8			
Primer F (25mM)	0.8			
Primer F (25mM)	0.8			
Primer F (25mM)	0.8	MIX	24 μl	ciclo
Primer R (25mM)	0.8	ADN	1 μl	95 °C 2 min
dNTPs (10mM)	0.5			95 °C 30 seg
Buffer (5X)	2.5			55 °C 30 seg X 30
Mg ⁺⁺ (50mM)	1			72 °C 1 min
H ₂ O	15			72 °C 6 min
<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 ovis*, *Histophilus somni* y *Actinobacillus seminis*. Comunicación Técnica, Area Producción Animal, INTA Bariloche, ISSN 1667-4006.