



# Búsqueda de proteínas bacterianas de unión específica a IgE en la dermatitis atópica canina



Olivares-Martínez M. (1), Galán-Relaño A. (1), Luque I. (1), Tarradas C. (1), Huerta B. (1), Ginel P.J. (2), Gómez-Gascón L. (1).

(1) Dpto. de Sanidad Animal, (2). Dpto. de Medicina y Cirugía Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de Córdoba. CEIA3. Campus Universitario de Rabanales.14071 Córdoba, España.

# Dermatitis atópica

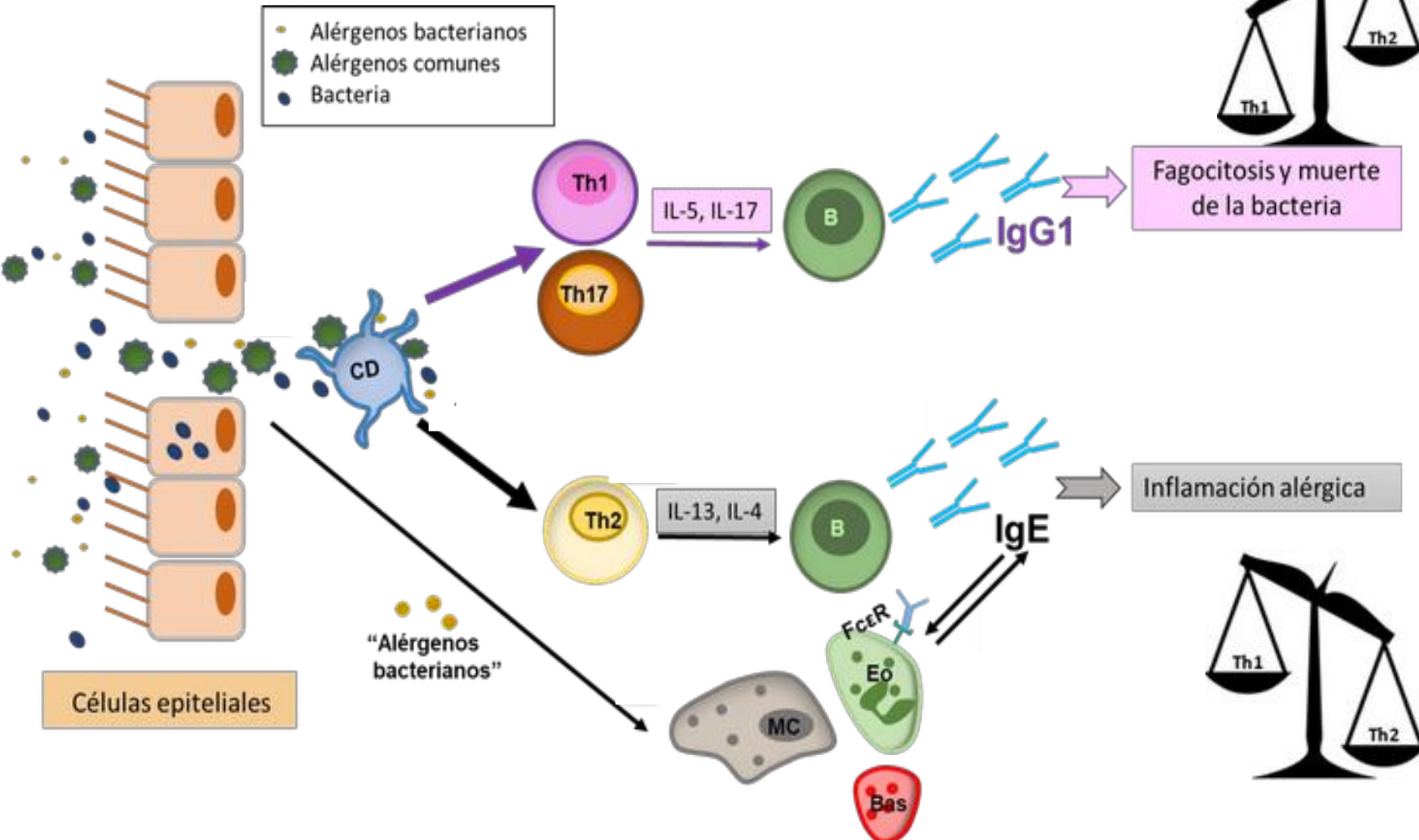
- Enfermedad crónica, inflamatoria, pruriginosa de la piel, asociada al desarrollo de IgE frente a alérgenos.
- “Atopic-like dermatitis”: alérgeno desconocido.



10-15% población canina



# Respuesta inmunitaria frente bacterias



# Antecedentes



Características similares  
Infecciones secundarias  
(*Staphylococcus*)

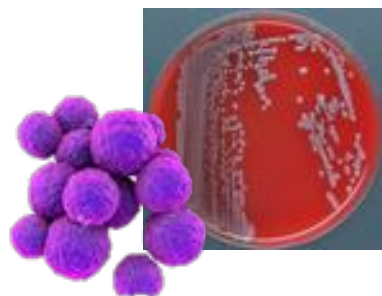
# Objetivo principal

Identificar proteínas secretadas por *S. aureus* y *S. pseudintermedius* de unión específica a IgE en perros con DA

## Objetivos específicos

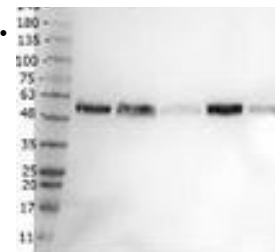
1

Aislamiento e identificación de cepas del género *Staphylococcus* de los perros sanos y con DA.



2

Identificar proteínas (pesos moleculares) de *S. aureus* y *S. pseudintermedius* de unión específica a la IgE mediante el desarrollo de la técnica *Western blot* monodimensional.

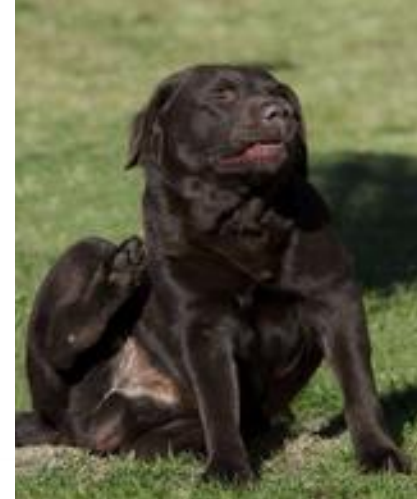


# Muestras

5 Sanos



3 Dermatitis atópica



## FORMULARIO DE INFORMACIÓN Y CONSENTIMIENTO INFORMADO ESCRITO

### 1. DOCUMENTO DE INFORMACIÓN PARA PARTICIPAR EN EL TRABAJO: *EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ALERGÉNICA DE Staphylococcus spp/ EN DERMATITIS ATÓPICA CANINA*

Este documento sirve para que usted, **como responsable o dueño del animal**, de su consentimiento para la participación de este en el estudio epidemiológico mediante la toma de una muestra de piel y sangre. Eso significa que nos autoriza a realizarlas.

Puede usted retirar este consentimiento cuando los desee. Firmarlo no le obliga a acceder a la intervención. De su rechazo no se derivará ninguna consecuencia adversa respecto a la calidad de la atención recibida por el animal. Antes de firmar, es importante que lea despacio la información siguiente.

**Díganos si tiene alguna duda o necesita más información.** Le atenderemos con mucho gusto.



**HOSPITAL CLÍNICO  
VETERINARIO**  
UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

# Procedimiento

## 1 Aislamiento e identificación cepas *Staphylococcus* de perros.

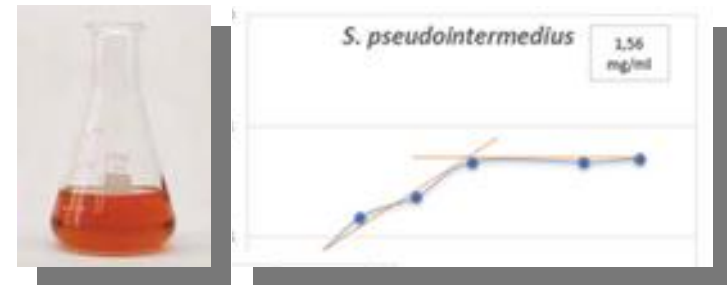


MALDI-TOF MS



## 2 Extracción y purificación de proteínas de todas las cepas

- *S. aureus* ATCC 29213
- *S. pseudintermedius* ATCC 49444
- *E. faecalis*: grupo AGR-256
- 8 aislados de perros



## 3 Western blot monodimensional

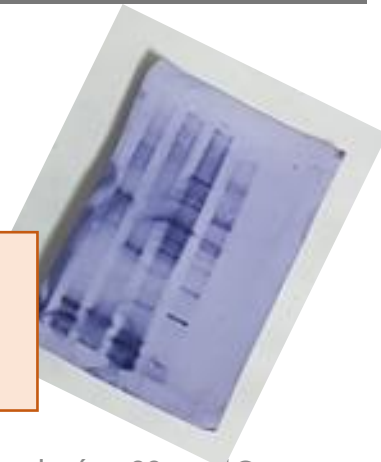
Suero  
1:20  
o/n



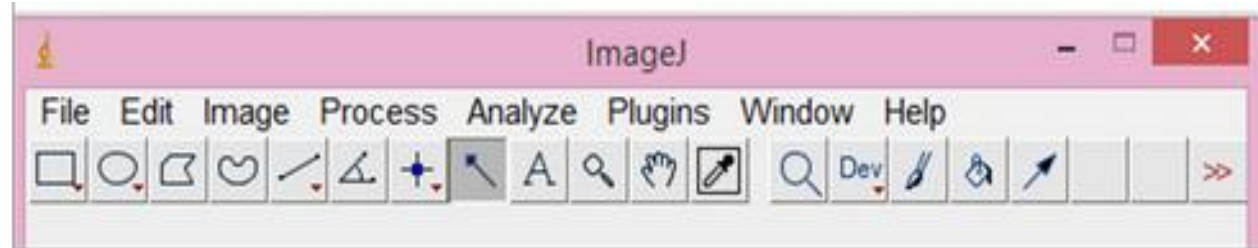
2 h  
Anti-IgE  
1:1000

1 h  
Anti-IgG, PA  
1:10000

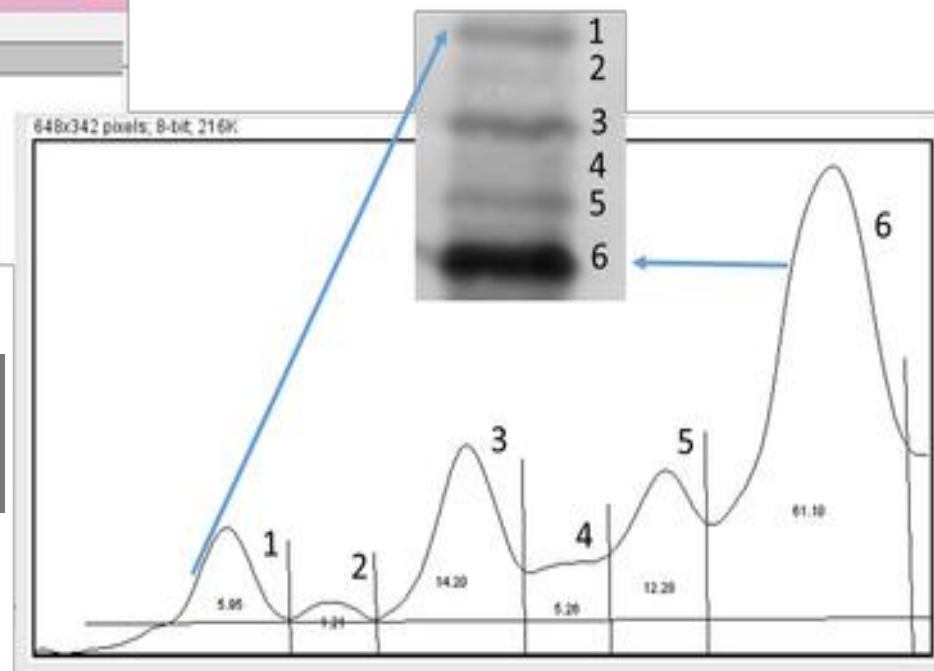
2-3 min  
NBT/BCIP  
5 ml



# Análisis de datos



File	Edit	Font	Results
Label	Area	Percent	
1	2607.154	5.954	
2	528.678	1.207	
3	6216.418	14.197	
4	2302.728	5.259	
5	5378.497	12.283	
6	26753.409	61.099	



## ImageJ

Image Processing & Analysis in Java



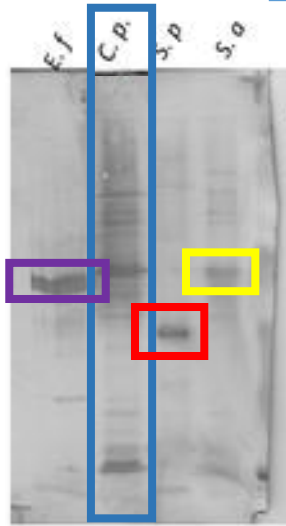
## GraphPad



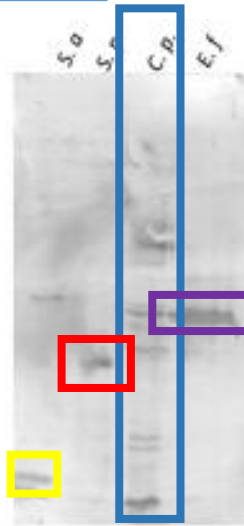
# Proteínas bacterianas de unión a la IgE

Perros Sanos

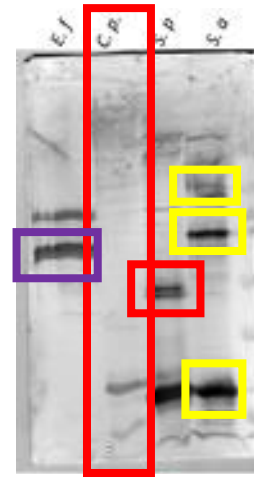
Perros DA



Perro 1



Perro 3



Perro 7

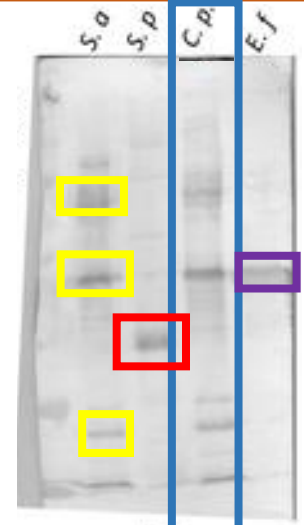
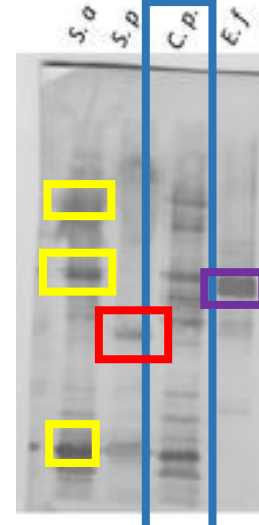
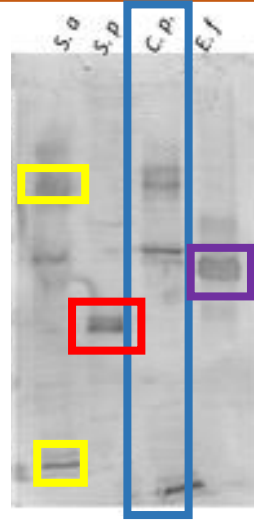
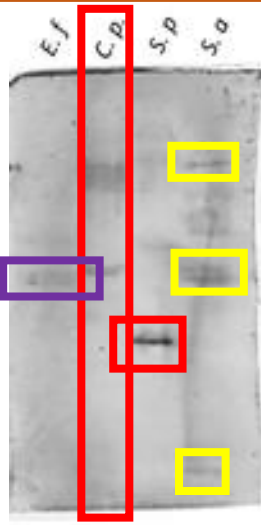
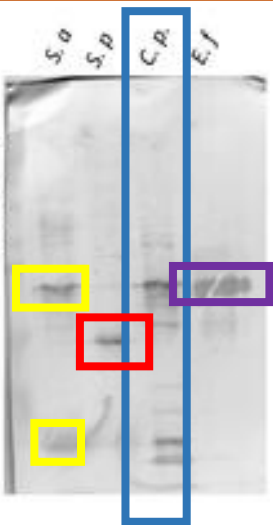
Perro 4

Perro 5

Perro 6

Perro 2

Perro 8



# Proteínas bacterianas de unión a la IgE

ARTICLE IN PRESS

## **Staphylococcal serine protease–like proteins are pacemakers of allergic airway reactions to *Staphylococcus aureus***

Length: 240  
Mass (Da): 26,097

Sebastian Stentzel, PhD,<sup>a</sup> Andrea Teufelberger,<sup>b</sup> Maria Nordengrün,<sup>a</sup> Julia Kolata, PhD,<sup>a,c</sup> Frank Schmidt, PhD,<sup>d,e</sup> Koen van Crombruggen, PhD,<sup>b</sup> Stephan Michalik, PhD,<sup>d,o</sup> Jana Kumpfmüller, PhD,<sup>f,k</sup> Sebastian Tischer,<sup>a</sup> Thomas Schweder, PhD,<sup>f</sup> Michael Hecker, PhD,<sup>g</sup> Susanne Engelmann, PhD,<sup>g,h,i</sup> Uwe Völker, PhD,<sup>d</sup> Olga Krysko, PhD,<sup>b</sup> Claus Bachert, MD, PhD,<sup>b,i</sup> and Barbara M. Bröker, MD<sup>a</sup> *Greifswald, Braunschweig, and Jena, Germany; Ghent, Belgium, Utrecht, The Netherlands, and Stockholm, Sweden*

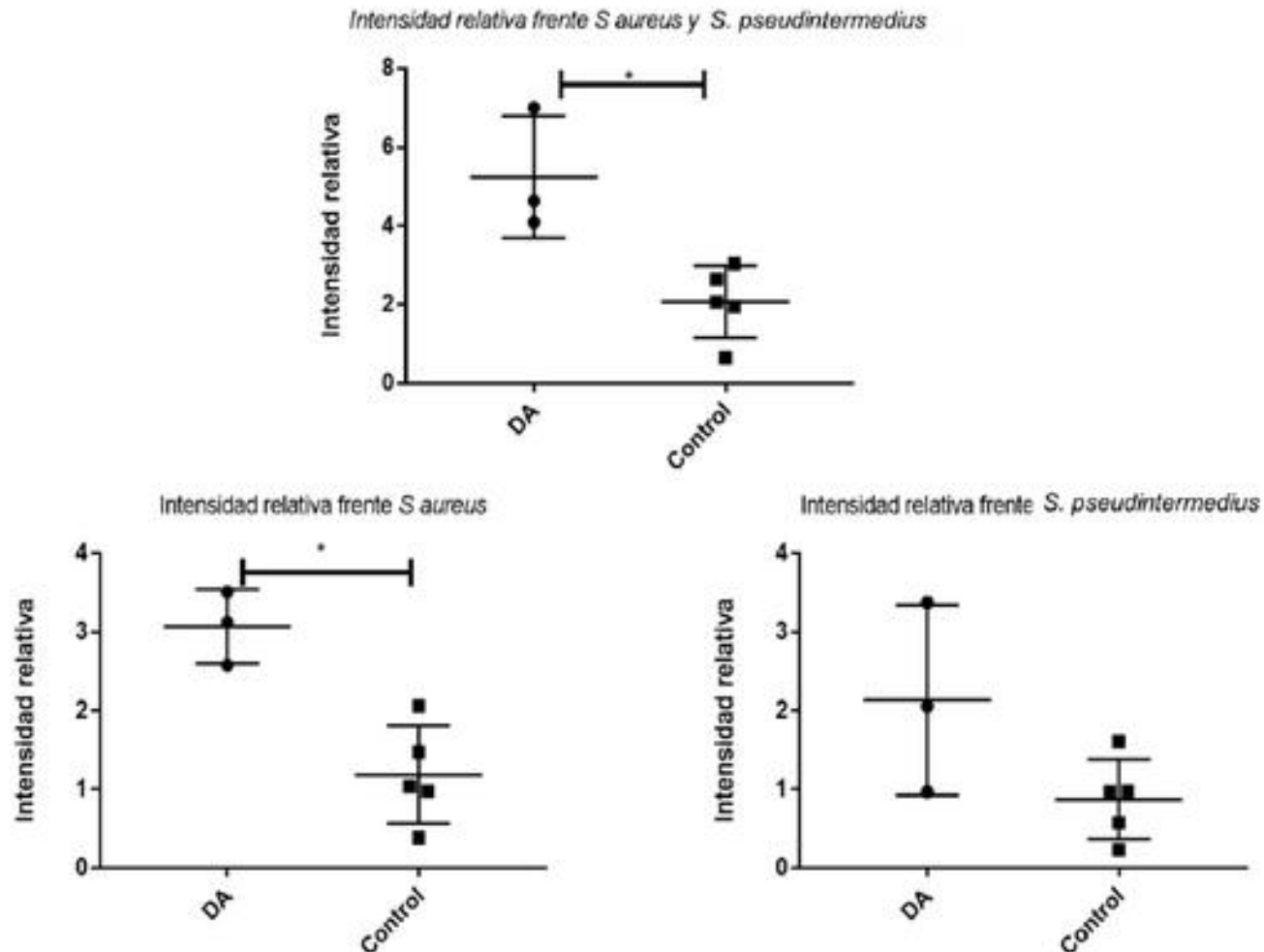
### **Atopic dermatitis and skin disease**

## ***Staphylococcus aureus* fibronectin-binding protein specifically binds IgE from patients with atopic dermatitis and requires antigen presentation for cellular immune responses**

Kavita Reginald, PhD,<sup>a</sup> Kerstin Westritschnig, MD,<sup>a</sup> Birgit Linhart, PhD,<sup>a</sup> Margarete Focke-Tejkl, PhD,<sup>b</sup> Beatrice Jahn-Schmid, PhD,<sup>a</sup> Julia Eckl-Dorna, MD, PhD,<sup>c</sup> Annice Heratizadeh, MD,<sup>f</sup> Angelika Stöcklinger Nadja Balic,<sup>d</sup> Susanne Spitzauer, MD,<sup>d</sup> Verena Niederberger, MD,<sup>c</sup> Thomas Werfel, MD,<sup>f</sup> Josef Thalhamer, PhD,<sup>g</sup> Stephan Weidinger, MD,<sup>i</sup> Natalija Novak, MD,<sup>i</sup> Markus Ollert, MD,<sup>h,i</sup> Alexander M. Hirschl, MD,<sup>o</sup> and Rudolf Valenta, MD<sup>a,b</sup> *Vienna and Salzburg, Austria, and Hannover, Munich, and Bonn, Germany*

...consists of 1070 amino acids which translate into a 565–amino acid protein with a molecular weight of 65.8 kD.

# Proteínas bacterianas de unión a la IgE



Intensidades relativas de señal en los western blot decorados con IgE de los animales con dermatitis atópica (DA) y animales del grupo control frente a las proteínas de *S. aureus*, *S. pseudintermedius* o frente a la suma de los dos. \* diferencias significativas  $p \leq 0,05$

# Búsqueda de proteínas bacterianas de unión específica a IgE en la dermatitis atópica canina

- **Primera:** Se observa la existencia de IgE específica en el suero de los perros, sanos y con dermatitis atópica frente a determinadas proteínas secretadas de las bacterias estudiadas (*S. aureus*, *S. pseudintermedius*, *E. faecalis* y propia cepa de cada perro) mediante el desarrollo de la técnica *Western Blot* monodimensional.
- **Segunda:** Se encontró una proteína reactiva a la IgE de 50 kDa en *S. pseudintermedius* y de 65 kDa en *E. faecalis* que se detectaron en todos los perros. En cuanto a *S. aureus*, se observaron proteínas de 100 kDa, 65 kDa y 25 kDa en todos los animales enfermos, pero solo en 2, 3 y 4 animales sanos, respectivamente.
- **Tercera:** Existen diferencias significativas entre los animales con dermatitis atópica y los sanos en las intensidades relativas frente a *S. aureus* o frente a las intensidades de ambas bacterias; *S. aureus* y *S. pseudintermedius*. Estos datos nos indican que los animales con DA presentan mayor cantidad de IgE de unión específica a las proteínas de secreción de estas bacterias que los animales sanos.

# Búsqueda de proteínas bacterianas de unión específica a IgE en la dermatitis atópica canina

# GRACIAS POR SU ATENCIÓN

Lidia Gómez Gascón,  
Universidad de Córdoba, Dpto. Sanidad Animal,  
Unidad Microbiología e Inmunología.  
[v32gogal@uco.es](mailto:v32gogal@uco.es)