



XLII SESIÓN DE COMUNICACIONES CIENTÍFICAS
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
2022

ISSN 2451-6732



Eficiencia de la PCR anidada para la detección de genoma de *Leishmanias sp.*

De Biasio, M.B.*; Esquivel, G.P.; Vega, L.E.; Almirón, E.C.

Servicio Veterinario de Biología Molecular. Sargento Cabral 2019, (3400) Corrientes - Facultad de Ciencias Veterinarias, (U.N.N.E).

*maribadb@yahoo.com.ar

Resumen:

La leishmaniasis visceral es una zoonosis grave causada por especies de *Leishmanias*, en la que los perros infectados son uno de los reservorios. La identificación del estado infectado/no infectado de cada animal tiene importancia sanitaria y epidemiológica y su detección podría lograrse utilizando técnicas de laboratorio eficientes. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la eficiencia analítica de una técnica molecular de detección de genoma de *Leishmania sp.*, para ser utilizada en muestras de caninos, a través del cálculo del valor predictivo de la misma. Se trabajó con muestras de médula ósea de perros, provistas por el Laboratorio de Leishmaniasis de la Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV) que ya fueron analizadas por microscopía directa (gold standard). En el Servicio Veterinario de Biología Molecular de la FCV se aplicó a las mismas la reacción en cadena de la polimerasa anidada (nPCR) para la amplificación de un fragmento del gen de la subunidad menor de ARNr género específico consistente en 2 rondas de amplificación sucesivas conteniendo: 1X de Buffer de PCR, 2mM MgCl₂; 0,2μM de cada cebador (S4/S12, primera ronda y S17/S18, segunda ronda); 0,2mM de una mezcla equimolecular de dNTPs y 2U de Taq ADN polimerasa. El control negativo fue agua y el positivo fue ADN parasitario cedido por el Instituto "Dr. Mario Fatala Chaben". Las condiciones térmicas fueron para la primera/segunda ronda de amplificación: desnaturalización inicial: 94°C por 3min/4min, luego 35/30 ciclos de desnaturalización a 94°C por 60seg; pegado de primer: 50°C/55°C por 60seg; extensión: 72°C por 60seg/30seg; extensión final: 72°C por 7min/10min e incubación: 4°C hasta su utilización. El producto de la primera ronda se utilizó como molde para la segunda. Los productos de amplificación fueron fragmentos de 520pb y 490pb respectivamente que fueron separados y visualizados por electroforesis en gel de agarosa 1% teñidos con bromuro de etidio y observados por transiluminación UV. Se analizaron muestras de médula ósea de 17 perros, los resultados obtenidos utilizando la técnica molecular fueron: 9 detectables y 8 no detectables, mientras que por microscopía directa fueron informados: 7 compatibles y 10 no compatibles con *Leishmanias sp.* obteniéndose para la técnica molecular un valor predictivo positivo (VPP) de 66,7% y un valor predictivo negativo (VPN) de 87,5%. A la vista de los resultados obtenidos, la fortaleza de esta técnica de nPCR radicaría en su capacidad para detectar animales no infectados, sin embargo sería adecuado aumentar el número de muestras a analizar para dar mayor valor estadístico a nuestros resultados. La optimización diagnóstica del diseño molecular ensayado podría lograrse por evaluación de los resultados obtenidos aplicando estratificación de pacientes de acuerdo a la presencia/ausencia de sintomatología compatible con la infección.

Palabras clave: Leishmaniasis, ADN, perros.