



XLI SESIÓN DE COMUNICACIONES CIENTÍFICAS
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
2021

ISSN 2451-6732



Optimización de condiciones experimentales para la identificación de *L. braziliensis* analizando diferentes secuencias del genoma

De Biasio M.*; Esquivel G.; Vega L.; Jastrzebski F.; Almirón E.

Servicio Veterinario de Biología Molecular. Sargento Cabral 2139, (3400) Corrientes – Facultad de Ciencias Veterinarias (U.N.N.E).

* Email: maribadb@yahoo.com.ar

Resumen:

Las leishmaniasis cutánea y mucosa son enfermedades infecciosas causadas por diferentes especies de protozoos del género *Leishmania*, transmitidas a humanos y animales por vectores de la familia Psychodidae. En América, una de las especies involucradas corresponde al subgénero *Viannia* especie *braziliensis*. En el Servicio Veterinario de Biología Molecular de la Facultad de Ciencias Veterinarias (UNNE) se optimizaron las condiciones químicas y térmicas para la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con la cual se amplificaron dos fragmentos diferentes del genoma de *Leishmania braziliensis*. Las reacciones fueron PCR sencillas llevadas a cabo con un volumen final de 25ul que contuvieron: 1X de Buffer de PCR, 0,2μM de cada oligonucleótido cebador (b1/b2 o B1/B2); 0,2mM de una mezcla equimolecular de dNTPs, 1U de Taq ADN polimerasa y 1,5mM MgCl₂. En todos los casos se incorporaron controles positivos consistentes en ADN de *L. braziliensis* cedidos gentilmente por el Instituto Nacional de Parasitología "Dr. Mario Fatała Chaben" y controles negativos consistentes en agua destilada. Las condiciones térmicas para la amplificación fueron: desnaturalización inicial: 95°C por 5min, luego 35 ciclos de desnaturalización a 95°C por 30seg; pegado de primer: 61°C por 60seg; extensión: 72°C por 60seg; extensión final: 72°C por 10min; incubación: 4°C hasta su utilización. Los productos de amplificación de ambas reacciones fueron fragmentos de 103pb y 750pb respectivamente. Éstos fueron separados y visualizados por electroforesis en gel de agarosa 2%, teñidos con bromuro de etidio y observados por transiluminación UV. Dada la elevada sensibilidad y especificidad de los métodos moleculares, cuando fueron aplicados a muestras de control positivos ambas dieron bandas de amplificación detectables del tamaño esperado no observándose bandas en muestras de ADN de *L. chagasi*.

Palabras clave:

PCR, zoonosis, ADN