

Identificación molecular y metodología para determinar filogenia en ehrlichiosis canina

Mansilla-Fernández S.L.^{1,2,3*}, Delgado M.B.^{1,2}; Rossner M.V.^{1,4}, Cainzos R.P.¹, Merino L.A.³, Koscinczuk P.¹

¹Catedra de Patología Médica. Departamento de Clínicas. Facultad Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional Nordeste (UNNE), Sargento Cabral 2139, Corrientes, Argentina.

²Consejo Nacional Investigación Científica y Técnica. (CONICET), Argentina.

³Laboratorio de Bacteriología, Instituto de Medicina Regional (UNNE), Av. Las Heras 727, Resistencia, Chaco. Argentina.

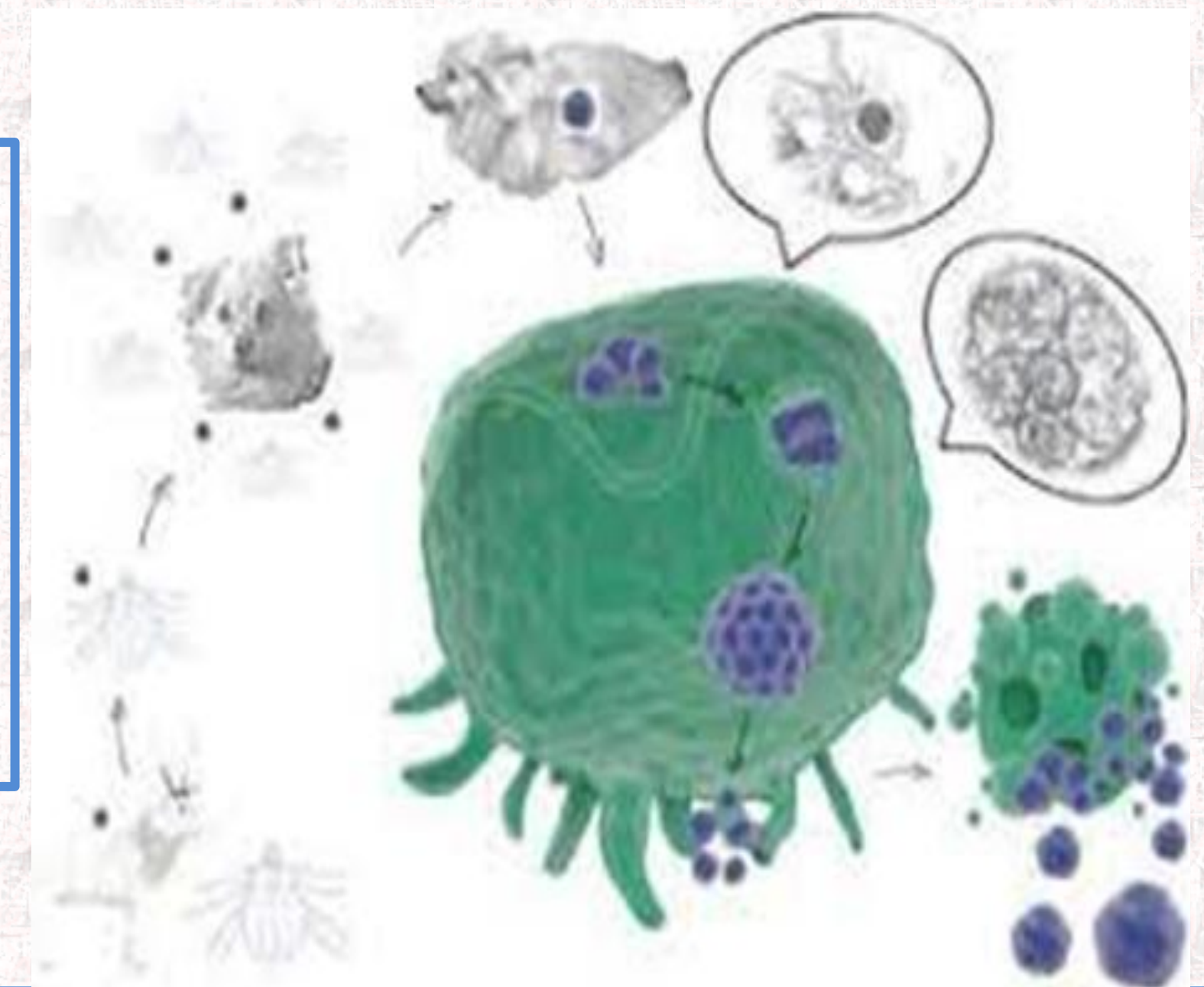
⁴Estación Experimental Agropecuaria (EEA) del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Marcos Briolini N° 750, Colonia Benítez, Chaco. Argentina.

*sl_mansilla@hotmail.com

Introducción

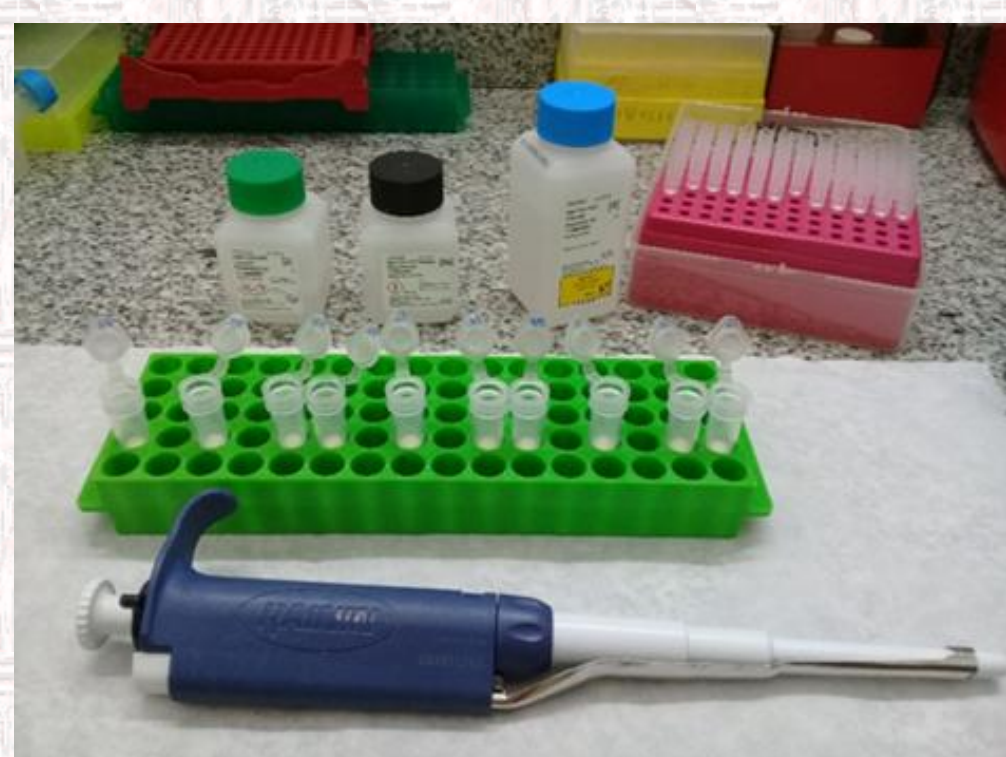
La ehrlichiosis monocítica canina (EMC) es causada por la bacteria *Ehrlichia canis* de importancia zoonótica. El vector es la garrapata *Rhipicephalus sanguineus* s.l. El diagnóstico es un desafío debido a las diferentes fases y múltiples manifestaciones clínicas de la enfermedad.

El objetivo del trabajo fue identificar por diagnóstico molecular y posterior secuenciación del gen *dsb* la presencia de *Ehrlichia canis*.



Metodología

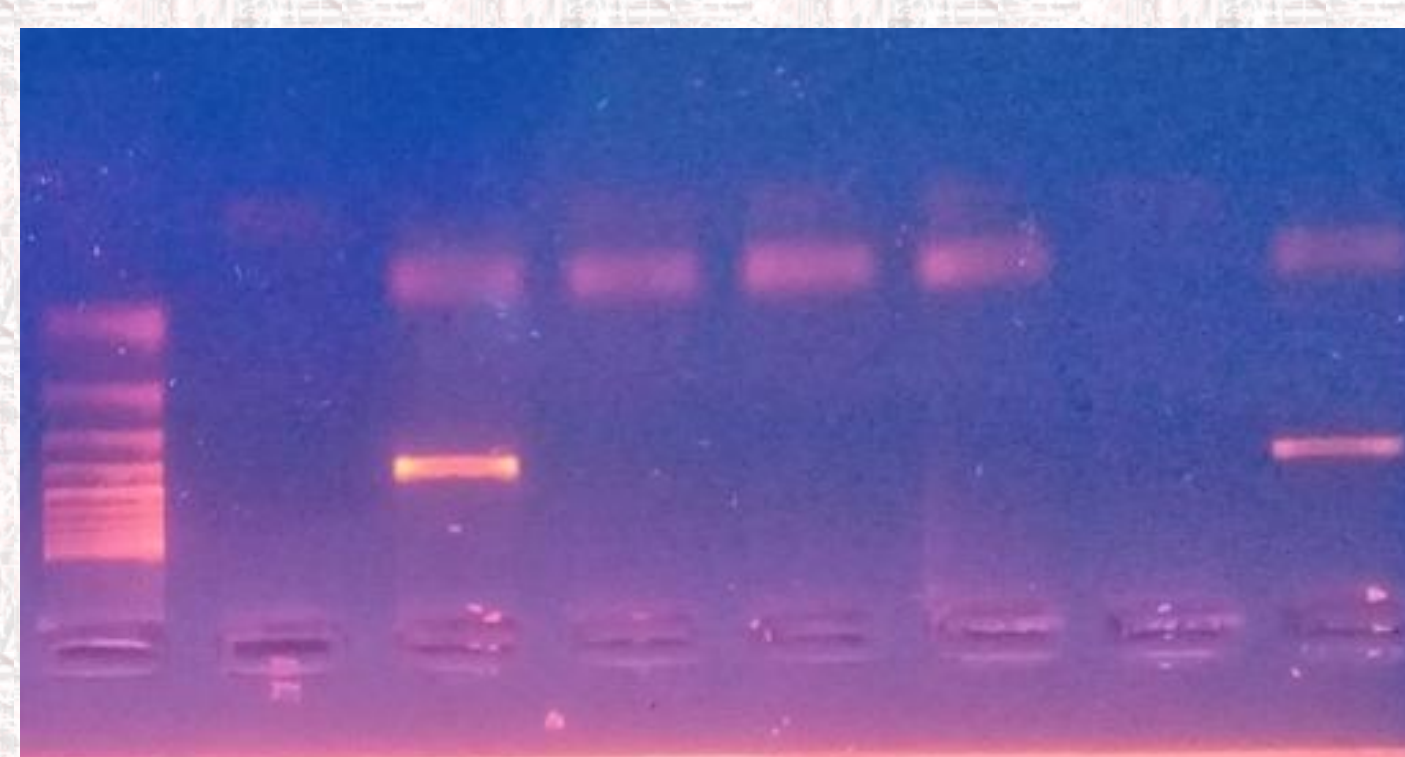
Se recolectaron muestras de sangre anticoagulada con EDTA de perros con sintomatología de EMC de Corrientes y Resistencia, Argentina. Se realizó PCR convencional utilizando un sebador para el gen *dsb* 330/728 del género *Ehrlichia* spp. Para la detección de las bandas de amplificación se realizó electroforesis en gel de agarosa al 1.5%. Se accedió al BLASTn GenBank® de la base de datos NCBI (National Center for Biotechnology Information) y los alineamientos se analizaron en formato FASTA.



Extracción de
ácidos nucleicos



Preparación de
reactivos para PCR



Electroforesis en gel de agarosa



Tipificación del agente
Análisis de secuencias

Resultados

Se procesó un total de 73 muestras en el período comprendido entre junio de 2018 y julio de 2020, de las cuales 6 fueron diagnosticadas como positivas por PCR a *Ehrlichia* spp., 3 muestras positivas fueron seleccionadas para secuenciación. Estas secuencias se compararon con secuencias depositadas en el GenBank del NCBI. El análisis realizado muestra que las secuencias encontradas se corresponden en un 100% con secuencias de *dsb* de *E. canis* aisladas de perros en Argentina, Brasil, Estados Unidos y Colombia (N° Genbank: KU253450, GU586135, CP000107, MK783026).

Conclusiones

No fue posible observar diferencias entre las secuencias del gen *dsb*, el cual es apropiado para el diagnóstico, pero su carácter conservado no permite la diferenciación genética de las diferentes cepas dentro de la especie. La búsqueda de variaciones genéticas asociada a la presentación clínica de los pacientes es útil para evaluar la virulencia de la cepa infectante de *E. canis* en la región. La PCR y posterior secuenciación del amplicón son la mejor estrategia para caracterizar a la bacteria y su asociación en el futuro con el cuadro clínico de los perros.

BIBLIOGRAFÍA:

Derakhshandeh N, Sharifiyazdi H, Hasiri MA. Molecular detection of *Ehrlichia* sp. in blood samples of dogs in southern Iran using polymerase chain reaction. *Vet Res Forum* 2017; 4: 347-51.
Doyle CK, Labruna MB, Breitschwerdt EB, Tang YW, Corstvet RE, Hegarty BC. Detection of medically important *Ehrlichia* by quantitative multicolor TaqMan real-time polymerase chain reaction of the *dsb* gene. *J Mol Diagnostics* 2005; 7: 504-10.
Eiras DF, Craviotto MB, Vezzani D, Eyal O. First description of natural *Ehrlichia canis* and *Anaplasma platys* infections in dogs from Argentina. *Microbiology and Infectious Diseases* 2013; 36: 169-173