

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

¹ Catedra de Patología Médica. Departamento de Clínicas. FCV - UNNE).

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

³ Laboratorio de Bacteriología, Instituto de Medicina Regional (UNNE).

⁴ Estación Experimental Agropecuaria (EEA-INTA), Colonia Benítez, Chaco.

*sl_mansilla@hotmail.com

Resumen:

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*. Se recolectaron muestras de sangre anticoagulada con EDTA de perros con sintomatología de EMC de Corrientes y Resistencia, Argentina. Se utilizó un método comercial de extracción de ADN por columnas (Roche) siguiendo las especificaciones del fabricante. 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) para descargar las secuencias obtenidas de los alineamientos. Dichos alineamientos se realizaron utilizando los cebadores específicos de las bacterias *Ehrlichia canis* en formato FASTA. Los fragmentos *dsb* amplificados y purificados fueron enviados a la unidad de genómica del INTA Rafaela. 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). 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.

Palabras clave: perros, *Ehrlichia canis*, caracterización