

Utilización del gen de receptor de transferrina de *T. evansi* para su identificación en muestras de equinos

Busellato, M.V.^{1*}, Esquivel G. P., Montesi A. M., Maruñak S. L., De Biasio M.B.

¹Servicio Veterinario de Biología Molecular. Sargento Cabral 2139, (3400) Corrientes - Facultad de Ciencias Veterinarias, (U.N.N.E).

*victoriabusellato@gmail.com

Resumen:

La enfermedad causada por *Trypanosoma evansi*, un protozoo flagelado que ingresa al torrente sanguíneo de los equinos pudiendo producir síndrome anémico, fiebre, parálisis y muerte, puede ser diagnosticada mediante el método parasitológico directo de baja y variable sensibilidad, serología (ELISA) de baja especificidad o bien mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la cual es capaz de detectar hasta 1 parásito/ml de sangre. El objetivo del presente trabajo es hallar las condiciones óptimas para la amplificación de un fragmento del gen multicopia que codifica el complejo heterodimérico del receptor de transferrina en *T. evansi*. En el Servicio Veterinario de Biología Molecular se optimizaron las condiciones químicas y térmicas para la detección de un fragmento del gen del parásito. La reacción de PCR sencilla se llevó a cabo en un volumen final de 25 µl que contuvo: 1X de Buffer de PCR, 0,5 µM de cada oligonucleótido cebador (ESAG6/7 Fw y ESAG6/7 Rew); 0,2mM de una mezcla equimolecular de dNTPs, 1.5U de Taq ADN polimerasa y 1,5 mM MgCl₂. En todos los casos se incorporó un control negativo consistente en agua destilada y un control positivo procedente de equinos infectados con el parásito y diagnosticados según el método parasitológico directo. Las condiciones térmicas para la amplificación fueron: desnaturalización inicial: 94 °C por 4 min, luego 35 ciclos de desnaturalización a 94 °C por 60 s; pegado de primer: 55 °C por 60 s; extensión: 72 °C por 60 s y una extensión final: 72 °C por 5 min e incubación a 4 °C hasta su utilización. Los productos de amplificación fueron separados por electroforesis en geles de agarosa 2 % en buffer TBE 1X, teñidos con bromuro de etidio y visualizados por transiluminación UV. Los métodos moleculares aplicados a muestras de control positivo dieron como resultado bandas de amplificación detectables del tamaño esperado (237 pb) no observándose bandas en muestras de control negativo. Esto nos permitirá continuar realizando pruebas de sensibilidad y especificidad necesarias para mejorar el diagnóstico de la enfermedad parasitaria.

Palabras clave: PCR, amplificación, ADN.

Eje: TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS y SALUD PÚBLICA