

Area de Beca: CM - Cs. Médicas

Título del Trabajo: **DETECCIÓN DE LEPTOSPIRAS APATÓGENAS EN MURCIÉLAGOS -
CORRIENTES, ARGENTINA.**

Autores: RAMIREZ, NATALIA N.; RUIZ, RAQUEL M.; DE BIASIO, MARIA B.

E-mail de Contacto: natyramirez13@hotmail.com

Teléfono: 0379-4425753 - int. 164

Tipo de Beca: UNNE Perfec. Tipo B

Resolución Nº: 136/13 CS

Período: 01/03/2013 - 01/03/2015

Proyecto Acreditado: 2010-B008. Resolución Nº 928/10. Roedores como reservorio de leptospirosis y leishmania y presencia de leptospirosis en fuentes de agua en zona ribereña, Corrientes. Secretaria General de CyT (2011-2014).

Lugar de Trabajo: Facultad de Cs. Veterinarias

Palabras Claves: PCR, *Leptospira sp.*, quirópteros

Resumen:

Las enfermedades zoonóticas de los animales silvestres están asociadas a una serie de factores y los relacionados al agente son, mutaciones, adaptabilidad y selección natural. Las leptospirosis, son las únicas espiroquetas que pueden vivir en el medio ambiente, fuera de un organismo vivo. El género tiene, 13 especies patógenas y 6 no patógenas (*L. biflexa*, *L. vanthielii*, *L. wolbachii*, *L. yanagawae*, *L. kmetyi*, *L. meyeri*). *L. biflexa* fue la primera en ser descrita, e ignorada por mucho tiempo. Es sabido que en un medio donde se hallan leptospirosis saprofitas, se encuentran las condiciones necesarias para el crecimiento de especies patógenas, estudios recientes remarcan la posible simbiosis de bacterias fotosintéticas y leptospirosis apatógenas, donde estas podrían utilizar sustratos producidos por otras bacterias como fuente de energía, manteniéndose de esta manera en un ambiente favorable. Por otra parte la invasión a macrófagos de especies patógenas es crítica en la causa de una infección, estudios realizados experimentalmente mencionan que *L. biflexa* poseen capacidad parcial para adherirse a los macrófagos, por lo que es probable que pueda propagarse a órganos diana y causar lesiones, deduciendo de esta manera la importancia de identificar leptospirosis apatógenas. Por lo tanto nuestro objetivo de estudio fue detectar infección natural de leptospirosis apatógenas en muestras de riñones de 53 quirópteros colectados durante los años 2010 a 2012 mediante el diagnóstico por Biología molecular (PCR). El área seleccionada fue la ciudad de Corrientes. Para la colecta de animales se utilizaron diferentes métodos, según el refugio localizado. Se tomaron sus características fenotípicas y morfométricas para la identificación, luego fueron anestesiados con Hidrato de cloral al 20%, siguiendo las normas de bienestar animal. Las muestras consistieron en secciones de un riñón, depositado en eppendorf y conservadas en freezer, hasta realizar la técnica. La extracción de ADN se realizó con detergente CTAB y purificación con cloroformo: alcohol isoamílico. Para la detección se analizó el gen ARN ribosomal 16S y se amplificó en un volumen final de 25µl cuyo producto es una banda 430 pb. Se utilizaron los siguientes reactivos: Buffer de PCR (Promega), MgCl₂ (Biodynamics), dNTP (Promega), primer y Taq DNA polimerasa (Go-Taq, Promega). El programa de ciclado consistió en desnaturalización inicial a 95°C durante 5 minutos, seguida de 35 ciclos de amplificación y una extensión final a 72°C por 7 minutos e incubación a 4°C. El control positivo de amplificación fue ADN de *L. biflexa* (serovar Patoc, cepa Patoc 1), y como control negativo agua destilada. Los productos de PCR se separaron por electroforesis en geles de agarosa 2% en buffer TBE1X, teñidos con bromuro de etidio, utilizando un marcador de peso molecular (cienmarker) y visualización por transiluminación UV. Como resultado se observaron amplificaciones a la altura de 430 pb y ausencia de la misma en el control negativo, según lo esperado. Se detectó ADN de leptospirosis en el 23.07% (12/53) de quirópteros hematófagos (*D. rotundus*) e insectívoros (*M. rufus* y *E. patagonicus*) analizados hasta el momento. La identificación de reservorios de leptospirosis patógenas como apatógenas es un factor clave en la epidemiología de la enfermedad. Es indiscutible la importancia de la presencia de los murciélagos en las ciudades, aunque su gran diversidad y dispersión favorecen a la distribución de las especies de Leptospiras, dado que estas presentan la habilidad de sobrevivir en diferentes condiciones ambientales por períodos variables, lo que muestra su gran capacidad de adaptación.

Becario
(Firma)

Co-Autor
(Firma)

Co-Autor
(Firma)

Director de Beca
(Firma y Aclaración)

Director de Proyecto
(Firma y Aclaración)

Control: 23s5c6o2n