

Sub-área: Novos horizontes no estudo da Leptospirose Animal

Primera detección de leptospiras intermedias en suero bovino aplicando una PCR dúplex para el diagnóstico diferencial

Primera detección de leptospiras intermedias en suero bovino aplicando una PCR duplex para el diagnóstico diferencial
Sylvia Grune Loffler, Instituto de Patobiología Veterinaria, IPVET, INTA
Castelar

Watanabe, Olivia; Hasenauer, Flavia; Saraullo, Vanina; Hamer, Micaela; Martínez, Mara; Brihuega, Bibiana; Grune Loffler, Sylvia.

Laboratorio de Leptospirosis, Instituto de Patobiología Veterinaria-IPVET, UEDD INTA-CONICET, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA).

La importancia de la leptospirosis radica no sólo a nivel económico-productivo, sino también a nivel de la Salud Pública, por ser el ganado una fuente importante de infección para las personas. En la producción bovina, las pérdidas económicas están causadas por abortos, natimortos, nacimiento de terneros débiles, mastitis y agalactia. Actualmente el género de *Leptospira* spp. se compone por 65 especies clasificadas génicamente y según grados de virulencia, en un clado de patógenas (subclados P1 y P2) y no patógenas (subclados S1 y S2). Las especies pertenecientes al grupo de las leptospiras intermedias han pasado del P2 al S1 en la actualidad. La primera descripción de una especie de leptospira intermedia fue en el año 1998, estas especies han sido aisladas a partir de muestras ambientales como de animales y de humanos con sintomatología, aunque su virulencia no ha podido ser confirmada aún, debido a que no se logra reproducir la enfermedad en el modelo animal (hámster). El grupo de las leptospiras intermedias se está estudiando desde hace poco en Argentina, se trabaja sobre la actualización de las herramientas diagnósticas moleculares para poder detectar este grupo en muestras clínicas. El objetivo fue desarrollar una PCR en tiempo final que detecte de manera diferencial las especies pertenecientes al grupo patógeno del intermedio usando sueros bovinos, previamente titulados por MAT. Se diseñó una end point PCR dúplex, que amplifica una región de aproximadamente 300 pb (patógenas) y de 700 bp (intermedias). El par de primers para el grupo de las intermedias se diseñó *in silico* mediante el análisis de las bases de datos genéticos disponibles del gen *rrs* de manera tal de amplificar todas las especies intermedias descritas hasta la fecha generando un amplicón de aproximadamente 700 pb, para permitir su fácil diferenciación con el amplicón generado del *secY* (patógenas). Este diseño se confirmó sobre las muestras de ADN de cepas conocidas (*Leptospira licerasiae* serovar Varillal cepa VAR010 y *L. fainei* sv. Hurstbridge cepa BUT6). Se evaluó su especificidad utilizando otros géneros bacterianos, *Escherichia* spp., *Pseudomas* spp., *Borrelia* spp., *Brucella* spp. y *Salmonella* spp. Se utilizaron un total de 75 sueros bovinos provenientes de la región Pampeana de nuestro país con sospecha clínica de leptospirosis y diagnóstico serológico negativo o no concluyente (títulos bajos e inespecíficos) por MAT. Se excluyeron los sueros con títulos altos a MAT debido a que la presencia de altos niveles de anticuerpos implica una muy baja probabilidad de encontrar ADN bacteriano en suero. De los 75 sueros procesados, 14 fueron positivos por esta PCR dúplex, 11 a leptospiras intermedias y 3 a leptospiras patógenas. El resultado positivo para especies patógenas en la PCR con un resultado negativo a MAT, podría indicar que éstos animales estaban cursando la etapa aguda de la enfermedad, en la cual todavía no hay

anticuerpos circulantes detectables. Estos resultados evidencian la circulación de leptospiras de este grupo en Argentina y resaltan la necesidad de profundizar en su estudio a nivel nacional y regional, a la vez demuestran el valor práctico de esta PCR que permite diferenciar ambos grupos de leptospiras, sin antecedentes en el país o la región.

Palabras clave: leptospirosis, PCR dúplex, diagnóstico, molecular.

Agencias financiadoras: Fondo para la Investigación Científica y Tecnológica (FONCyT) de la Agencia Nacional de Promoción de la Investigación, el Desarrollo tecnológico y la Innovación (PICT 2016-1314).