



## NOVEDADES TECNICAS

### PE 1115052 ENFERMEDADES ZONÓTICAS Y EXÓTICAS LIMITANTES DEL COMERCIO INTERNACIONAL

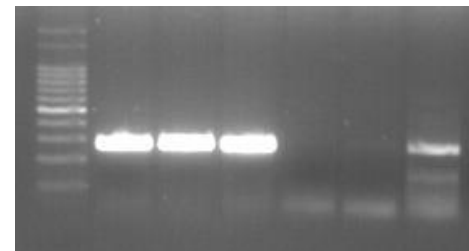
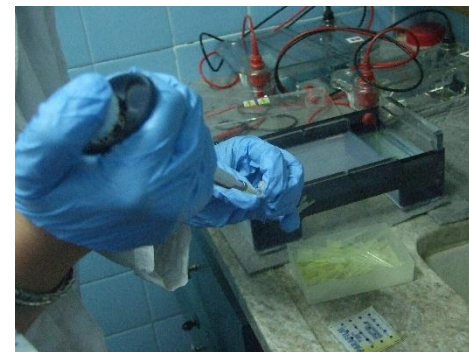
#### PCR PARA DETECTAR LEPTOSPIRAS PATÓGENAS EN MUESTRAS CLÍNICAS ANIMALES

Sylvia Grune Loffler; Bibiana Brihuega. Laboratorio de Leptospirosis. Instituto de Patobiología, CICVyA. PNSA 1115052- Módulo Zoonosis reemergentes de impacto socio económico

El Grupo de Investigación del Laboratorio de Leptospirosis (Centro de Referencia OIE) perteneciente al Instituto de Patobiología ubicado en el INTA de Castelar, trabajó en el marco del Proyecto Nacional de Sanidad Animal 1115052, Módulo Zoonosis reemergentes de impacto socio económico, en una PCR de tiempo final para la detección de ADN de leptospiras patógenas a partir de muestras clínicas de animales de producción.

Esta PCR utilizó los cebadores modificados (primers): G1 (5'- CTG AATCGCTGTATAAAAGT) y G2 (5'- GGAAAACAAATGGTCGGAAG), éstos amplificaron una banda de 246-285pb a partir del ADN de todas las especies patógenas de *Leptospira* spp., exceptuando *L. kirschneri*. Los cebadores B64I (5'-CTGAATTCTCATCTCAACTC) y B64II (5'GCAGAAATCAGATGGACGAT) amplificaron un producto de 542-563 pb a partir de ADN de *L. kirschneri*. La mix para la reacciones de PCR, de volumen final de 50 µl estaba compuesta de la siguiente manera: 10X buffer: 500mM-KCL, 20mM MgCl<sub>2</sub>, 100mM-Tris/HCL, pH 9.0, 0.5 µl de una solución de 50µmol de cada primer, 0.5 µl de una mix conteniendo 10mM de cada desoxinucleico dATP, dTTP, dCTP,y dGTP, Taq polimerasa (0.5U) y agua destilada libre de nucleasas. De templado (molde) de ADN se utilizaron entre 2 µl. El programa de ciclado fue de 94°C durante 5 minutos (desnaturalización), 34 ciclos de 94°C por 1,5 minutos, 55°C durante 1 minuto y 72°C durante 2 minutos, la extensión final fue de 72°C durante 7 minutos.

Los productos de amplificación se analizaron por electroforesis en un gel de agarosa 2% teñido con bromuro de etidio y se utilizó un transiluminador de luz UV (Uvi Tec transiluminador BTS-20.M). Los tamaños de las bandas se determinaron con un marcador molecular de 100bp (Embiotech). Se incluyeron controles negativos para asegurar que no haya contaminación ambiental y un control positivo. Se probó esta PCR con muestras de órganos, suero y orina con resultados favorables. Esta herramienta diagnóstica permite discriminar si la leptospira es patógena o no.



Coordinador PNSA: Dr Gustavo Zielinsky

Coordinador PI: Dr Carlos Rossanigo

Coordinadores PEs: Mariano Pérez Filgueira – Anselmo Odeon - Luis Calvino  
Carlos Robles – Mariano Fernandez Miyakawa – Bessone Fernando

Responsable Boletín: Dr. Carlos Rossanigo  
EEA San Luis, Villa Mercedes  
rossanigo.carlos@inta.gob.ar