

## DETECCIÓN Y DIFERENCIACIÓN MOLECULAR EN SIMULTÁNEO DE ESPECIES DE *EIMERIA* SPP. QUE INFECTAN AVES COMERCIALES

Tomazic ML<sup>1</sup>, Delgado F<sup>2</sup>, Balbiani F<sup>2</sup>, Jauregui GR<sup>2</sup>, Schapiro JH<sup>2,3</sup>, Palacios L<sup>4</sup>, De Franceschi ME<sup>4</sup>, Rodríguez AE<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Patobiología Veterinaria (IPVET), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET); <sup>2</sup>IPVET, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA); <sup>3</sup>Escuela de Veterinaria de la Universidad del Salvador (USAL); <sup>4</sup>Universidad Nacional de Luján (UNLU)

La producción de carne aviar enfrenta en la actualidad nuevos desafíos por lo cual los productores requieren de mejores técnicas diagnósticas para adoptar a tiempo medidas de control. La coccidiosis aviar es una parasitosis intestinal, altamente contagiosa que causa pérdidas económicas significativas en los sistemas de producción intensiva. La coccidiosis subclínica, de difícil diagnóstico, causa el 80% de las pérdidas económicas ya que influye directamente en la ganancia de peso de los animales de producción. La coccidiosis es causada por parásitos del género *Eimeria* y se transmiten vía fecal-oral a través del ooquiste esporulado. Hasta el momento se conocen siete especies que infectan a las aves. El diagnóstico tradicional se realiza por observación microscópica de los ooquistes en materia fecal. La determinación de las especies se realiza por morfometría del ooquiste, y observación de la localización y tipo de lesiones intestinales en las necropsias. Esto requiere de personal entrenado y capacitado, además de muestras con gran cantidad de ooquistes para la determinación de cada especie. Por otra parte el diagnóstico de la coccidiosis subclínica se realiza por raspajes seriados de la mucosa intestinal. De esta manera el diagnóstico tradicional de la coccidiosis es laborioso, consume mucho tiempo y no es definitivo, poniendo de manifiesto la necesidad de contar con un diagnóstico específico, sensible y rápido. El objetivo de este trabajo fue la implementación de técnicas moleculares como la PCR-multiplex que permita la detección y diferenciación de especies de *Eimeria* spp. en simultáneo. La PCR-multiplex se puso a punto con ADN extraído de dos vacunas vivas con diferente mezcla de especies (Evalon®, Hipra, y Fortegra®, MSD). Se establecieron las mejores condiciones de amplificación mediante PCRs simples para 5 de las 7 especies: *E. tenella*, *E. maxima*, *E. acervulina*, *E. brunetti* y *E. necatrix* y luego, se combinó en una PCR-multiplex las primeras 4 especies. A partir de las camas de un establecimiento productivo de pollos parrilleros ubicado en la provincia de Buenos Aires, se aislaron por flotación en solución saturada de NaCl los ooquistes de *Eimeria* spp., se esporularon *in vitro*, y se extrajo el ADN con fenol/cloroformo/alcohol isoamílico, tal como se estableció previamente. Por otra parte, se realizó el diagnóstico tradicional luego de una infección experimental *in vivo* realizada con una dosis conocida del mismo aislamiento de campo. En este trabajo, por primera vez en la Argentina, se logró la detección por biología molecular de las especies *E. maxima*, *E. acervulina*, *E. tenella* y *E. necatrix*, lo cual coincide con la observación microscópica y la localización de las lesiones intestinales de los pollos infectados experimentalmente. Si bien es necesario completar el estudio para el resto de las especies (*E. mitis* y *E. praecox*), estos resultados preliminares lograron una detección específica y rápida de las especies involucradas, lo cual puede contribuir al desarrollo de estrategias eficaces de control y prevención de la coccidiosis aviar.