

**Beca cofinanciada CONICET-UM**

**Detección y genotipificación de *Nosema ceranae*, un microsporidio parásito de abejas**

Lucas Lannutti

IFiNe, Universidad de Morón, llannutti@hotmail.com

*Nosema ceranae* y *N. apis* son algunos de los principales patógenos que afectan a la apicultura de todo el mundo. La nosemosis, como se conoce a la enfermedad, es descrita como una enfermedad del estrés de la colmena, relacionada con importantes pérdidas económicas. De las dos especies, *N. ceranae* se asocia una infección más grave. En la actualidad no existen tratamientos aprobados para controlar esta enfermedad, por tanto, el diagnóstico preventivo resulta fundamental para su correcto manejo. En la práctica, el diagnóstico se realiza mediante microscopía óptica, con la desventaja de no poder identificar la especie presente en la muestra analizada. Por ello, las técnicas basadas en PCR son una opción para lograr la detección especie específica del patógeno. Existe una variable de estas que no está del todo explorada en *Nosema*, LAMP (*loop mediated isothermal amplification*), que permite optimizar tiempos y costos, a la vez que garantiza mayor sensibilidad y especificidad con respecto a PCRs tradicionales. Visto esto, nos hemos propuesto el desarrollo de una LAMP para la detección específica de *N. ceranae*. Para este trabajo contamos con muestras de abejas provenientes de diferentes provincias de la Argentina ( $n=70$ ), y controles de Alemania; todos confirmados como infectados con *N. ceranae* por microscopía y PCR, en caso de ADN. Se desarrollaron primers específicos y se pusieron a punto las condiciones de reacción para los mismos. Con el fin de evaluar la eficacia y sensibilidad de nuestra nueva LAMP, se compararon los resultados con amplificaciones de PCR realizadas sobre las mismas muestras. Nuestros resultados arrojaron una eficiencia del 98,6% y 95,7% para LAMP y PCR respectivamente, lo que implica una mayor eficiencia para la primera. En cuanto al límite de detección, LAMP demostró ser 10 veces más sensible que la PCR de referencia, llegando a detectar concentraciones teóricas de una espora por abeja (mínima unidad infectiva). Se puso a prueba la especificidad de los primers, utilizando ADN de diferentes especies de *Nosema*, sin observarse amplificación inespecífica. Finalmente, se comprobó la viabilidad del formato direct-LAMP, que implica realizar una LAMP directamente sobre la muestra, sin extracción de ADN. Los resultados obtenidos muestran que es una alternativa viable, planteando así nuevas posibilidades de optimización en estos métodos de detección. En vista de estos resultados, hemos contribuido con una nueva técnica rápida, específica y sensible para futuros estudios de esta enfermedad, que permitirán entender su estado actual en la Argentina.

**Palabras clave:** *Nosema ceranae*, *Apis mellifera*, LAMP, PCR, nosemosis