

XXI REUNIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA

“DR. BERNARDO JORGE CARRILLO”

ASOCIACION ARGENTINA DE VETERINARIOS DE

LABORATORIO DE DIAGNOSTICO

Fundada el 21 de noviembre de 1984

Personería Jurídica 439/96

Afiliada a la World Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians (WAVLD)



6, 7 y 8 de OCTUBRE de 2016

SAN SALVADOR DE JUJUY

XXI Reunión científico-técnica Dr. Bernardo Jorge Carrillo : Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorio de Diagnóstico / Raúl Eduardo Marin ... [et al.] ; compilado por Raúl Eduardo Marin ... [et al.]. - 1a ed . - San Salvador de Jujuy : Universidad Nacional de Jujuy, 2016.

182 p. ; 29 x 21 cm.

ISBN 978-987-3926-15-0

1. Diagnóstico. 2. Veterinaria. 3. Bacteriología. I. Marin, Raúl Eduardo II. Marin, Raúl Eduardo, comp.

CDD 636.089

ISBN 978-987-3926-15-0



COMISION DIRECTIVA 2015-2016

Presidente:

- Dr. Raúl Eduardo Marín

Vicepresidente:

- Dra. Carmen Maffrand

Tesorera:

- Dra. Nirma González

Secretaria:

- Dra. Sandra Romero

Vocales Titulares:

- Dr. Daniel Aguirre
- Dra. María Graciela Draghi
- Dra. Carolina Gorchs
- Dra. Daniela Susana Martinis Mercado

Vocales Suplentes:

- Dra. Ana María Canal
- Dr. Gustavo Combessies
- Dra. Elvira María Falzoni
- Dr. Luis Samartino

**AGRADECEMOS A LOS AUSPICIANTES QUE COLABORARON PARA
QUE ESTA REUNION FUERA POSIBLE**

CEVA	LABORATORIO MESOPOTAMICO
VETANCO	LABORATORIO SAN ISIDRO
BIOCHEMIQ	LLAMAS LABORATORIO Y SERVICIOS
ROSENBUSCH	LABORATORIO BIOLOGICO DE TANDIL
IMMUNOLOGY	RADIO VISION JUJUY
LASA ANIMAL	UNIVERSIDAD NACIONAL DE JUJUY (UNJU)
LABORATORIO JDA	FACULTD DE CIENCIAS AGRARIAS (UNJU)
LABORATORIO AZUL	HOTEL PLAZA HOWARD JOHNSON JUJUY
INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGIA AGROPECUARIA (INTA)	MINISTERIO DE DESARROLLO ECONOMICO Y PRODUCCIÓN DEL GOBIERNO DE JUJUY

EDITORIAL

La AAVLD concreta su XXI Reunión Técnico Científica en la provincia de Jujuy. Este libro de Memorias compila la presentación de trabajos científicos y resúmenes de conferencias, plasmando el esfuerzo de la comunidad de colegas, que orientan el ejercicio de la profesión al aporte científico y al apoyo diagnóstico en salud animal y la cadena agroalimentaria.

Sin dudas que el desafío de ofrecer este evento en una provincia tan distante y en un año económicamente difícil, nos colocó en la situación de redoblar esfuerzos para alcanzar el éxito con el nivel organizativo y académico adecuado. La desinteresada colaboración y el alto compromiso puesto de manifiesto por los integrantes de la Comisión Directiva en la organización, planificación y concreción de nuestra Reunión bienal, merece mi mayor reconocimiento y agradecimiento a cada uno de ellos.

El planteo de una opción interesante para la región en cuanto a las temáticas propuestas, con el aporte de destacados especialistas nacionales e internacionales, consideramos que seguramente propiciará un espacio de intercambio de conocimientos y discusión, para una región con un gran potencial ganadero, en la que el diagnóstico de las enfermedades animales conforma un punto crítico para el desarrollo exitoso de la producción pecuaria.

En ésta oportunidad en que la historia de la AAVLD recalca en Jujuy, tierra natal de quien fuera socio fundador y primer Presidente de la misma, nos congratula brindar un merecido reconocimiento a un hombre de bien, que supo marcar sendas que muchos convirtieron en camino, encontrando un alentador ejemplo para seguir. Por estas razones nominamos “Dr. Bernardo Jorge Carrillo a ésta XXI Reunión Técnico Científica.

Finalmente, me queda agradecer a cada uno de los asistentes, disertantes y auspiciantes, que sin dudas también se esforzaron para estar presentes y colaborar dentro de sus posibilidades, y a cada una de las personas que de alguna manera aportaron para la concreción de este evento, esperando que todos disfruten también de nuestra provincia y sus paisajes.

Raul Eduardo Marin
Presidente de la AAVLD

RESUMENES DE CONFERENCIAS

ENFERMEDADES NEUROLÓGICAS EN BOVINOS

Franklin Riet Correa

Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA)

La Estanzuela, Colonia, Uruguay

Email: frcorrea@inia.org.uy

Se describen las enfermedades del sistema nervioso central (SNC) de bovinos. Tres enfermedades que causan signos cerebrales y ceguera tienen signos clínicos y patología semejante: polioencefalomalacia por intoxicación por azufre, intoxicación por sal y carencia de vitamina B1 (acidosis crónica); encefalitis por herpesvirus bovino-5; e intoxicación por plomo. Las 3 causan polioencefalomalacia, pero la encefalitis por HVB-5 causa también encefalitis. En el caso de intoxicación por plomo el diagnóstico es por la epidemiología y la determinación del metal. La encefalopatía hepática causada por plantas que contienen alcaloides pirrolizidínicos que causan fibrosis hepática se caracteriza por agresividad, diarrea y tenesmo rectal y cuando es causada por plantas que causan necrosis hepática se observan materias fecales con muco o sangre. En la histología se observa vacuolización de la mielina. También la babesiosis por *Babesia bovis* causa signos cerebrales. La lesión característica es la congestión de la corteza cerebral y la presencia de *Babesia bovis* en los eritrocitos presentes en los capilares. Dentro de las enfermedades que afectan el cerebelo y/o tronco encefálico se encuentran la hipoplasia y la abiotrofia cerebelar, la listeriosis. Las intoxicaciones por plantas que contienen swainsonina causan vacuolización de diversas células del SNC y otros órganos. La intoxicación por *Solanum* spp. causa vacuolización de las neuronas de Purkinje y la intoxicación por *Prosopis juliflora* causa vacuolización de neuronas motoras de los núcleos de los nervios craneanos, principalmente el facial. En la intoxicación por closantel, que causa edema intramielínico, el signo clínico más frecuente es la ceguera por degeneración del nervio óptico. Entre las enfermedades que afectan la médula se encuentran la carencia de cobre que causa degeneración de la mielina en corderos y cabritos y la leucosis bovina, ambas con paresia progresiva y parálisis. Otras enfermedades son la intoxicación por *Ramaria flavo-brunnescens* y la amebiasis cerebral. Las intoxicaciones tremorgénicas caracterizadas por temblores de intensión (cerebelares) o generalizados, reversibles, incluyen las intoxicaciones por *Claviceps paspali*, *Cynodon dactylon*, y raigrás *stagers*, que deben ser diferenciadas de las intoxicaciones por *Phalaris* spp, que causa pigmentación del encéfalo y la diplodiosis, causada por *Stenocarpella maydis*, que ocasiona, en algunos casos, degeneración de la mielina. Otra micotoxicosis de importancia es la intoxicación por toxinas de *Aspergillus clavatus* (patulina y otras micotoxinas) que infecta subproductos de cebada. Dentro de las enfermedades que causan encefalitis y mielitis difusas del sistema nervioso la más conocida es la rabia, principalmente la forma paralítica, transmitida por murciélagos. Algunas enfermedades que causan signos nerviosos y no presentan lesiones incluyen el botulismo que presenta parálisis flácida, el tétano y la intoxicación por urea que tiene que ser diagnosticada por los datos epidemiológicos. La intoxicación por algunas lactonas macrocíclicas ocurre en animales jóvenes y es generalmente reversible. En el nordeste del Brasil, *Talisia esculenta* e *Hybanthus calceolaria* causan signos nerviosos sin lesiones histológicas y deben ser diagnosticadas principalmente por los signos clínicos, ausencia de lesiones y presencia de las plantas. Los signos clínicos de los abscesos cerebrales, la criptococosis, y la coenurosis son progresivos y variables, dependiendo de la localización de las lesiones. En el caso de traumatismos los signos aparecen repentinamente con tendencia a permanecer estables o mejorar gradualmente. En áreas donde la tuberculosis tiene frecuencia alta las infecciones pueden afectar el sistema nervioso causando, principalmente meningitis granulomatosa. La tripanosomiasis por *Tripanosoma vivax* causa brotes en algunas regiones de Brasil donde los Tabanideos, que son los vectores mecánicos del parásito, no ocurren todo el año. Los signos más marcados son adelgazamiento y anemia, pero algunos animales presentan signos nerviosos con severa encefalitis. Otras enfermedades que, a pesar de no afectar directamente el SNC causan signos nerviosos son la cetosis y la hipocalcemia, que deben ser diagnosticadas por la patología clínica.

ENFERMEDADES NEUROLÓGICAS EN EQUINOS

Franklin Riet Correa

Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA)

La Estanzuela, Colonia, Uruguay

Email: frcorrea@inia.org.uy

Se describen las enfermedades del sistema nervioso central (SNC) de equinos. De las enfermedades víricas la más frecuente en Brasil es la rabia transmitida por murciélagos hematófagos que puede causar signos clínicos variados, con lesiones inflamatorias de encéfalo y médula. En aproximadamente 50% de los casos se observan corpúsculos de Negri. También ocurre la encefalomielitis equina del este, que aparece en épocas de abundancia de mosquitos. Los signos son de andar en círculo y otras manifestaciones cerebrales y, en menor grado, signos de tronco encefálico o médula. Las lesiones histológicas muestran encefalitis severa, con necrosis neuronal, neuronofagia y hemorragias. Otra enfermedad vírica de ocurrencia esporádica es la mielitis por Herpesvirus equino-1, que generalmente tiene un curso agudo con lesiones severas de la médula que causan parálisis e incontinencia urinaria. La leucoencefalomalacia causada por *Fusarium verticillioides* (*monoliforme*), que crece en maíz y subproductos del mismo, es una enfermedad aguda que en la mayoría de los casos causa la muerte en 12-24 horas. Las lesiones de malacia de la sustancia blanca del encéfalo y con menor frecuencia del tronco encefálico son características de la intoxicación, que ocurre principalmente en invierno cuando es más frecuente la administración de maíz. La mieloencefalitis por *Sarcocystis neurona* es una enfermedad crónica, esporádica, con signos clínicos característicos de lesiones asimétricas focales de los núcleos de los nervios craneanos y médula. El diagnóstico debe ser realizado por la presencia de anticuerpos en el líquido cefalorraquídeo. Las lesiones histológicas son características y el agente causal puede ser identificado por inmunohistoquímica. Tripanosomiasis por *Trypanosoma evansi* causa una enfermedad caquectizante progresiva con evolución clínica de varios meses. Algunos animales, 2 a 5 días antes de la muerte, presentan signos clínicos cerebrales y, con menor frecuencia, de la médula. Otros equinos desarrollan solamente signos nerviosos y mueren en hasta 7 días. Las lesiones macroscópicas del SNC se caracterizan por malacia y edema semejantes a las observadas en la leucoencefalomalacia. Se diferencia de esta última por ser de evolución clínica más prolongada y por presentar, histológicamente, severa encefalomielitis con células de Mott. La enfermedad más frecuente en caballos del nordeste de Brasil es la intoxicación por *Crotalaria retusa* que causa lesiones hepáticas y encefalopatía hepática con ceguera, movimientos involuntarios, presión de la cabeza contra objetos y ataxia. El diagnóstico se realiza por las lesiones histológicas hepáticas. Signos reversibles de lesiones de los núcleos de los nervios craneanos son observados en la intoxicación por *Bambusa vulgaris*. La intoxicación por *Hypochoeris radicata* es frecuente en Uruguay y Brasil. El principal signo clínico es arpeo bilateral en caballos por lesiones de desmielinización, regeneración y remielinización de los nervios periféricos, principalmente los de los miembros posteriores. Abscesos del sistema nervioso son raros en caballos, pero los traumatismos son frecuentes. Los signos clínicos dependen de la localización de las lesiones. Los abscesos tienen un curso clínico subagudo o crónico y los traumatismos aparecen en forma súbita y los signos se mantienen estables o regresan lentamente. El tétano es una enfermedad frecuente en equinos y otros équidos no vacunados. Para veterinarios la vacunación o utilización de suero o antibióticos es imprescindible para la práctica de castración u otras prácticas quirúrgicas.

TOXOPLASMOSIS EN PEQUEÑOS RUMIANTES

Mota Rinaldo A.¹, Venturini M.C.² ¹Universidad Federal Rural do Pernambuco. Brasil. ²LAINPA, FCV, U.N.L.P. Argentina, cventuri@fcv.unlp.edu.ar

La toxoplasmosis es una protozoosis sistémica producida por un parásito de localización intracelular denominado *Toxoplasma gondii*. La infección por este parásito es cosmopolita y la principal repercusión clínica de la toxoplasmosis caprina es el aborto, lo que produce severas pérdidas económicas a los productores rurales. Los felinos son los hospedadores definitivos de este parásito y son considerados el principal factor de riesgo para la diseminación de la toxoplasmosis. Los felinos eliminan ooquistes en las heces que contaminan los alimentos y agua, siendo la ingestión de ooquistes la principal forma de infección de la cabra. En la cabra gestante, el parásito llega al útero por la vía sanguínea y se multiplica en los tejidos fetales dando origen a reabsorción embrionaria, aborto, momificación fetal o nacimiento prematuro, lo que dependerá del grado de inmunocompetencia fetal. El impacto en la salud pública de la toxoplasmosis caprina suele ser más relevante en los países o regiones con alta densidad de cabras y con hábitos de consumo de carnes poco cocidas contaminadas con quistes y leche con taquizoítos del parásito. El diagnóstico en los casos de abortos es difícil, siendo necesario enviar el material a laboratorios especializados. El control de la toxoplasmosis caprina es posible mediante la implementación de medidas adecuadas de manejo del rebaño, la utilización de fármacos y la vacunación. En las ovejas la presentación de esta enfermedad es muy parecida, pero en las cabras, pueden ocurrir abortos a repetición. La presencia de *T. gondii* puede determinarse con diferentes métodos de diagnóstico. Entre los directos, la presencia de quistes tisulares o taquizoítos se puede observar en fresco o en muestras de tejidos obtenidas *post-mortem* o mediante estudios histopatológicos en los que es posible asociar la presencia del parásito a determinadas lesiones. Con técnicas inmunohistoquímicas como la prueba del complejo avidina biotina y estreptavidina biotina y sueros hiperinmunes anti-*T.gondii* se puede confirmar el diagnóstico diferenciando de protozoos de morfología similar como *N. caninum*. El aislamiento de parásitos se realiza *in vivo* e *in vitro* a partir de material sospechoso. Mediante *nested* PCR RFLP, en la actualidad se utilizan entre 9 y 11 marcadores para identificar los diferentes clonotipos o genotipos. Los indirectos detectan anticuerpos en el suero, líquido fetal, líquido cefalorraquídeo y humor acuoso. La sensibilidad y especificidad de estas pruebas varía de acuerdo a las características del antígeno. En algunas de ellas éste consiste en taquizoítos enteros, por lo que los epitopes superficiales son los que están expuestos; en otras se utilizan taquizoítos fragmentados, por eso pueden estar mayormente expuestos los epitopes citoplasmáticos. Se ha difundido el uso de la prueba de inmunofluorescencia indirecta con taquizoítos completos. También se utilizan diferentes pruebas de ELISA. Es importante tener en cuenta que en estas pruebas indirectas se debe emplear un conjugado anti especie específico de acuerdo a las indicaciones del laboratorio elaborador. Las pruebas de aglutinación directa utilizan taquizoítos inactivados completos, que se enfrentan con el suero problema. En las de aglutinación indirecta, las fracciones antigénicas de los taquizoítos son adsorbidas a partículas utilizadas como soporte. Si bien pueden utilizarse para estudios de prevalencia serológica, no son aconsejables para el diagnóstico y seguimiento serológico ya que por sus características no detectan estados iniciales de la infección. Todas las pruebas de aglutinación que han sido creadas para el diagnóstico en humanos, deben validarse antes de utilizarlas en animales. La identificación de anticuerpos en los líquidos fetales y la presencia de anticuerpos, previo a mamar el calostro, indican la infección transplacentaria. Por lo tanto, la posible relación con el aborto y/o el nacimiento de animales infectados congénitamente, pero clínicamente sanos. Es aconsejable la determinación de anticuerpos en grupos de animales con y sin abortos de una misma explotación. La seroprevalencia de este protozoo en cabras es variable, en diferentes zonas geográficas de Argentina. En estudios recientes Gos y col. analizaron 2187 sueros de cabras de 76 hatos de la provincia de Córdoba detectando anticuerpos para *T. gondii* en el 33,3% y en el 4,2% para *N. caninum*. En la provincia de Buenos Aires se detectaron anticuerpos para *T. gondii* en el 63% de 735 caprinos de 17 establecimientos lecheros. Hecker y col. analizaron 6 tambos ovinos de la región de la pampa húmeda para determinar la presencia de anticuerpos para *T. gondii* y *N. caninum*, detectando un 17,3% (n=704) y 3% de animales seropositivos, respectivamente. Sin embargo, en ambas especies, no se conoce la relación entre estas seroprevalencias con la frecuencia en la aparición de abortos en este tipo de explotaciones, como tampoco la posible relación con las características geográficas.

- Gos M.L, Manazza J, Moré G, De Felice L, Unzaga J, Späth E, Venturini M.C. Seroprevalence of toxoplasmosis and neosporosis in goats from Córdoba, Argentina. Apicomplexa 2012: International Meeting on Apicomplexan Parasites in Farm Animals, Lisboa, Portugal.

- Gos M.L, Manazza J, Moré G, Pardini L, Unzaga J, Späth E, Venturini M.C. Seroprevalence of toxoplasmosis and neosporosis in dairy goats from Buenos Aires, Argentina. Apicomplexa 2012: International Meeting on Apicomplexan Parasites in Farm Animals, Lisboa, Portugal.

- Hecker Y.P, Moore D.P, Manazza J.A, Unzaga J.M, Späth E.J.A, Pardini L. L., Venturini M. C, Roberi J.L, Campero C.M. First report of seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dairy sheep from humid pampa. Trop Anim Health Prod. 2013. 45 (7):1645-7.

VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA DE LA BESNOITIOSIS BOVINA

G. Álvarez-García, L.M. Ortega-Mora, C. Diezma-Díaz, J. Moreno-Gonzalo, A. Jiménez-Meléndez, P. García-Lunar, D. Gutiérrez-Expósito, I. Ferre-Pérez

Grupo SALUVET. Dpto. de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid, 28040 Madrid, España. saluvet@vet.ucm.es

La besnoitiosis bovina, ocasionada por el protozoo apicomplejo *Besnoitia besnoiti*, es una enfermedad de curso crónico y debilitante que ocasiona importantes pérdidas económicas. Aunque muchos animales pueden permanecer asintomáticos, la gravedad es variable, pudiendo ocasionar una pérdida de la condición corporal, esterilidad en los toros y, ocasionalmente, abortos e incluso la muerte de los animales enfermos. Por tanto, esta enfermedad origina pérdidas económicas importantes, ya que afecta negativamente a los parámetros productivos y reproductivos en explotaciones extensivas o semi-extensivas de carne.

La enfermedad está muy extendida en países del África sub-sahariana y diversas zonas de Asia. Además, en las dos últimas décadas, se ha observado un aumento del número de casos y una notable expansión geográfica de la enfermedad desde países donde la enfermedad es endémica (Francia, Portugal, España e Italia) a países del centro y este de Europa. Recientemente, la enfermedad también se ha descrito en las Islas Británicas, por lo que en la actualidad está considerada como una enfermedad re-emergente en Europa y cuya expansión continúa. Probablemente, este hecho se deba a que su transmisión se ve favorecida por las prácticas de manejo que habitualmente se realizan en explotaciones de vacas nodriza: monta natural, uso de pastos compartidos, incorporación de animales sin controles sanitarios previos y un incremento en el comercio y circulación de reproductores. Este hecho ha facilitado la difusión de la enfermedad por la adquisición de animales infectados, que en muchos casos no muestran signos clínicos o lesiones evidentes (portadores asintomáticos).

En el continente americano se desconoce, hasta el momento, si la enfermedad está presente. Por tanto, los veterinarios deben familiarizarse con la enfermedad para identificar casos sospechosos, confirmar la presencia de la enfermedad y evitar su entrada en zonas libres, ya que esta zona del mundo cuenta con el mayor censo vacuno de carne del mundo y donde se comparten prácticas de riesgo. En la actualidad, no existen fármacos ni vacunas eficaces y, por tanto, las medidas de control deben basarse en un diagnóstico preciso en combinación con medidas de manejo adaptadas a la situación epidemiológica de la granja. El programa de control debería tener dos objetivos principales: por un lado, evitar la entrada de la infección al rebaño (bioseguridad) y, por otro, evitar su diseminación (biocontención). Para ello, es importante evaluar la situación de partida de la granja mediante un diagnóstico conjunto clínico y serológico del rebaño completo, ya que el porcentaje de infecciones subclínicas puede ser elevado y existe un bajo porcentaje de animales seronegativos que permanecen como portadores del parásito.

Agradecimientos: se agradece la financiación recibida de la Red CYTED-Protozoovac y del MINECO (proyecto AGL2013- 46442-R).

IMPORTANCIA DE LA TRICOMONOSIS BOVINA Y EFICACIA DE LOS PROGRAMAS DE CONTROL EN ESPAÑA

Collantes-Fernández E. ¹, Moreno-Gonzalo J. ¹, Rojo-Montejo, S. ², Sánchez-Sánchez R. ¹, Osoro K. ², Ortega-Mora, L.M. ¹

¹Grupo SALUVET. Dpto. de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid, 28040 Madrid, España. saluvet@vet.ucm.es. ²Área de Sistemas de Producción Animal, Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA), Consejería de Medio Ambiente y Desarrollo Rural, E-33300 Villaviciosa, Asturias, España.

La tricomonosis bovina es una enfermedad de transmisión sexual (ETS) de etiología parasitaria que produce fallo reproductivo temprano. Esta enfermedad es frecuente en los sistemas extensivos donde se utiliza la monta natural, causando importantes pérdidas económicas. En Europa gracias a la implantación de medidas eficaces, la enfermedad se ha controlado en la mayoría de los países y únicamente se notifica de forma esporádica y solo en algunas zonas. Sin embargo en los últimos años, el censo de vacuno de carne criado en condiciones extensivas en España se ha incrementado notablemente. En estos sistemas están presentes diversos factores de riesgo para las ETS, como el uso de pastos comunales y la monta natural, la existencia de toros compartidos o el comercio de animales cuyo estado sanitario se desconoce. Varios estudios realizados por el grupo SALUVET (Universidad Complutense de Madrid) han puesto de manifiesto la re-emergencia de la tricomonosis bovina en explotaciones donde se usa la monta natural. Los datos obtenidos en los últimos años por el servicio de diagnóstico del grupo SALUVET, indican que esta enfermedad es frecuente en las explotaciones de vacas nodrizas en nuestro país, detectándose en el 15-20% de los toros analizados. Asimismo, la prevalencia en las áreas de montaña fue mayor que en las zonas de dehesa, posiblemente relacionado con el uso de pastos comunales. Concretamente, en muestreos realizados al azar en una raza autóctona representativa del sistema de montaña en España, se observaron prevalencias de rebaño del 41,5%. En relación a las repercusiones de la tricomonosis bovina en España, se ha estimado que los rebaños infectados presentaron un alargamiento del intervalo entre partos de 80 días y disminución del 17,2% en el número de terneros/año, suponiendo casi un 70% menos de ingresos anuales. Estos resultados indican la necesidad de implementar planes de control eficaces en España para disminuir las pérdidas económicas causadas por la enfermedad. En este sentido, las únicas medidas de control en nuestro país se basan en el diagnóstico y sacrificio voluntario de los toros infectados. En estudios recientes, se evaluó la eficacia de esta medida de control en explotaciones de vacuno de cría en zonas de montaña. Después del diagnóstico y sacrificio de los toros infectados, se observó una mejora de los parámetros reproductivos y una disminución de la prevalencia. Sin embargo, esta medida no es siempre totalmente eficaz y su éxito es variable dependiendo de la presencia de factores de riesgo. Ante esta situación, la vacunación de las hembras podría ser una medida de control beneficiosa, pero en Europa no existe ninguna vacuna comercial disponible. En estudios recientes realizados por el grupo SALUVET, se han desarrollado y probado diferentes formulaciones vacunales y vías de administración en un modelo bovino experimental que podrían ser útiles para el control de esta enfermedad en España.

Agradecimientos: se agradece la financiación recibida de la Red CYTED-Protozoovac y los proyectos RTA2009-00136-C02-02, MAGRAMA 2013002000802 y PLATESA S20137ABI-2906.

NEOSPOROSIS BOVINA: SITUACIÓN ACTUAL Y AVANCES RECIENTES.

L.M. Ortega Mora, J. Regidor Cerrillo, I. Ferre, G. Alvarez García, E. Collantes Fernández

Grupo SALUVET. Dpto. de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid, 28040 Madrid, España.

saluvet@vet.ucm.es

La neosporosis es una enfermedad parasitaria del ganado bovino que cursa con aborto y mortalidad neonatal, causada por un protozoo, *Neospora caninum*, de morfología similar a *Toxoplasma gondii*, aunque ambos presentan características biológicas bien diferenciadas. El ciclo biológico de *N. caninum* es heteroxeno facultativo. El perro y otros cánidos silvestres se han identificado como hospedadores definitivos pudiendo eliminar ooquistes con sus heces, que tras su esporulación en el ambiente actuarían como fase infectante para los hospedadores intermediarios. Diversas especies de ungulados, incluida la especie bovina actuarían como tal, no pudiéndose descartar el papel de otras especies domésticas y silvestres como potenciales hospedadores intermediarios. Desde su primera descripción en un feto bovino abortado en 1989, *N. caninum* se ha considerado como una de las principales causas de aborto en esta especie doméstica, originando unas pérdidas económicas cuantiosas que incluyen unos costes directos -alteración de los parámetros reproductivos- y unos costes indirectos (diagnóstico, reposición del ganado que aborta y alteración de los parámetros productivos). En general, se observan diferencias importantes entre las tasas de seropositividad obtenidas en diversos países en bovinos de leche y de carne y en animales con y sin antecedente de abortos. En los estudios realizados en el ganado de diversos países sudamericanos se indican prevalencias individuales en ganado de leche del 11,2% al 80,9% y en ganado de carne del 4,7%-24,9%. Desde hace más de una década se tiene un profundo conocimiento de la importancia de la transmisión vertical vía transplacentaria (TT) de *N. caninum* en el ganado bovino. Este modo de transmisión se produce cuando en la hembra gestante los taquizoítos atraviesan la placenta e invaden al feto. El otro modo de transmisión de importancia en la neosporosis bovina es el horizontal o postnatal. Aunque su presentación es menos frecuente, sus repercusiones clínicas y económicas pueden ser mucho mayores. En la práctica, se produce por ingestión por parte del ganado de los ooquistes que son eliminados por los perros y que contaminan el alimento o el agua. Según su origen, la TT puede ser endógena (TTE_n) o exógena (TTE_x). La TTE_n ocurre tras la recrudescencia de una infección crónica en la hembra durante la gestación, asociada a un patrón endémico de aborto. Por su parte la TTE_x tiene lugar tras una primoinfección de la hembra gestante con ooquistes eliminados por el perro (transmisión horizontal) y está asociada a un patrón epidémico de aborto. Clínicamente, la neosporosis se manifiesta con la producción de aborto principalmente entre los meses 4 y 7 de gestación. El punto de partida en el diseño de un programa de control de la neosporosis es conocer la situación inicial de la granja sobre el grado de diseminación de la infección o la implicación de la enfermedad en los abortos. Un diagnóstico correcto y completo no sólo debe incluir el conocimiento de la prevalencia de la infección y su implicación en el aborto, sino también el modo predominante de transmisión puesto que de ello dependen las consecuencias clínicas y económicas de la infección y, por tanto, las medidas de control a adoptar en cada caso. **Agradecimientos:** se agradece la financiación recibida de la Red CYTED-Protozoovac y del MINECO (proyecto AGL2013-44694-R).

LA TRICOMONOSIS GENITAL BOVINA EN ARGENTINA

Marcelo Fort, Lumila Fuchs, Valeria Baldone, Hugo Giménez, Carina Bonetti, Lucas Urquiza.

Grupo de Sanidad Animal, INTA Anguil, La Pampa, Argentina. fort.marcelo15@inta.gob.ar

La eficacia reproductiva es, sin duda, uno de los principales aspectos que influyen en la viabilidad del sector bovino. Las enfermedades venéreas transmisibles y entre ellas la Tricomonosis genital bovina (TGB) son responsables de una parte importante de las pérdidas producidas en los bovinos durante la concepción y la gestación. La TGB fue descrita por primera vez en 1888 por Kunstler, sin embargo su descubrimiento fue atribuido a un científico Italiano Mazzanti (1900). Esto ocurrió por la misma época en que se descubría la brucelosis, lo cual probablemente haya desviado la atención hacia esta enfermedad en detrimento de la investigación sobre *Tritrichomonas foetus*. Los reportes siguientes relativos a la enfermedad recién ocurrieron en Alemania entre 1924 y 1929 (Drescher, Riedmüller y Albein). A partir de este momento el conocimiento de la enfermedad se dispara, registrándose informes en muchas partes del mundo. En Argentina la TGB es descrita por primera vez en 1939 por Rosenbusch. Sin embargo a pesar del tiempo transcurrido, *Tritrichomonas foetus* sigue estando presente en rodeos de EE.UU, Argentina, España, Australia, República de Transkei, Brasil, Turquía, Argelia, Sudáfrica, China. Del mismo modo la TGB podría estar presente en otros países con ganadería extensiva en donde esta enfermedad no ha sido investigada. A pesar de la inclusión de la TGB en la Lista de enfermedades de declaración obligatoria establecida por la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), no existen actualmente programas nacionales de monitoreo para determinar la incidencia y prevalencia de la misma. Esta falta de monitoreo y reporte, conjuntamente con las inconsistencias encontradas en el desarrollo de las técnicas de diagnóstico utilizadas, ha causado que la producción bovina en gran parte del mundo haya subestimado los efectos adversos de esta enfermedad. En la medida de nuestros conocimientos solo en algunas regiones de Argentina y EEUU existen regulaciones para el control obligatorio de los toros. Sin embargo, estas son solo para la venta de toros en remates públicos, mientras que los toros vendidos en forma privada y aquellos existentes en los propios establecimientos no están alcanzados por el control. Solamente la Provincia de La Pampa viene desarrollando durante los últimos 10 años un programa obligatorio para el control y erradicación. Los resultados son concluyentes: más del 82% de los toros bajo control, la erradicación de las enfermedades venéreas en más de 1100 rodeos sobre un total de 7500 existentes, una caída significativa de los toros infectados con una incidencia anual inferior al 0,7%. Si bien podemos decir que de acuerdo a los índices epidémicos la enfermedad está controlada en La Pampa, es importante continuar avanzando hacia la erradicación de la misma, para luego poder transferir la metodología hacia otros territorios. Sin embargo para lograr su erradicación, es indispensable mejorar entre otros, aspectos referidos al diagnóstico, mejorando la sensibilidad y especificidad de las pruebas diagnósticas usadas actualmente. En este sentido los vínculos con otros actores como el que nos ocupa de la Red CYTED-Protozoovac y a través de la misma la realización de cursos y talleres, son herramientas importantes para el logro de los distintos objetivos. Esto es de importancia no solo para el control de las enfermedades en la Argentina, sino también para la transferencia tecnológica de las técnicas y programas aplicados en distintos países, hacia otras regiones y países de Iberoamérica.

Agradecimientos: a la Red CYTED-Protozoovac.

NEOSPOROSIS EN ARGENTINA

Dadín Prando Moore

CONICET, Argentina. moore.dadin@inta.gob.ar

La neosporosis es una enfermedad causada por el protozoo apicomplexa *Neospora caninum*. Desde la descripción de anticuerpos específicos en bovinos y su identificación en tejidos de fetos bovinos naturalmente abortados, se realizaron numerosos estudios seroepidemiológicos en diversas especies domésticas incluyendo bovinos, ovinos, caprinos y equinos. Asimismo, se demostró que los zorros y liebres silvestres desarrollan anticuerpos contra *N. caninum* desconociéndose su implicancia epidemiológica.

Esfuerzos sustanciales para lograr el aislamiento de cepas locales han tenido su fruto mediante el hallazgo de 3 nuevas cepas denominadas: NC-6 Argentina, aislada desde las heces de un perro naturalmente infectado, NC-LP1, aislada de un ternero congénitamente infectado y NC Axis, aislada de un ciervo. Los abortos en bovinos y casos de enfermedad neuromuscular en caninos que han sido informados en nuestro país ocasionaron que los laboratorios privados de diagnóstico veterinario implementen técnicas serológicas, histopatológicas y moleculares para la identificación del parásito.

Para la detección de anticuerpos en suero sanguíneo, leche o en fluidos fetales disponemos de técnicas serológicas (inmunofluorescencia indirecta, ELISA indirecto, ELISA para avidéz, inmunoblot, inmunocromatografía, microaglutinación). La prevalencia real de la enfermedad en el país es parcialmente conocida, aunque se sigue acumulando evidencia acerca de su amplia distribución en las principales zonas ganaderas del país incluyendo el Noroeste, Noreste y centro. La seropositividad en una hembra que abortó no es elemento suficiente para interpretar que el agente causal fue *N. caninum*. Tampoco tiene validez establecer un título final porque hembras bovinas que paren terneros infectados sin signos clínicos pueden desarrollar altos títulos de anticuerpos. Lo recomendado es recolectar muestras de vacas que han abortado y también muestras de vacas del mismo rodeo que mantengan aún la preñez. La comparación de las proporciones de animales seropositivos en ambos grupos nos permitirá inferir si *N. caninum* estuvo involucrada en los abortos observados. Ejemplo 1: 6 de 10 vacas que abortaron resultan seropositivas y 5 de 10 vacas preñadas resultan seropositivas: hay infección en el rodeo pero *N. caninum* no estaría asociada a la presentación de los abortos. Ejemplo 2: 8 de 10 vacas que abortaron resultan seropositivas y sólo 2 de 10 vacas preñadas resultan seropositivas: *N. caninum* estaría asociada a la presentación de los abortos. Igualmente, el hecho de encontrar anticuerpos en fluidos fetales o incluso la detección de ADN por PCR demuestran la infección congénita pero no debería interpretarse que el aborto fue causado por *N. caninum* siendo este hecho muy frecuente debido a la alta eficiencia que tiene este protozoo para transmitirse en forma congénita. La histopatología adquiere relevante valor diagnóstico cuando se observan las lesiones patológicas características de meningoencefalitis necrotizante multifocal no supurativas.

Aunque se han realizado estudios para desarrollar inmunógenos, obteniendo resultados alentadores, aún se encuentran en etapa de experimentación. Sin escapar a la realidad de otras vacunas, el desafío es buscar un balance entre inocuidad y eficacia. En el país, no existen estudios que hayan evaluado la utilización de drogas en bovinos para evitar la infección o el aborto.

Las pérdidas económicas ocasionadas han sido estimadas en 33 y 13 millones de dólares para la industria lechera y carnicera, respectivamente. La implementación de medidas integrales de manejo tendientes a interrumpir el ciclo de vida parasitario en establecimientos comerciales para leche permitió observar beneficios reproductivos y productivos. Estas medidas incluyeron: a) evitar que perros y otros potenciales huéspedes definitivos contaminen con sus heces las pasturas y otras fuentes de alimento y agua; b) los caninos no debían tener acceso a material posiblemente infectado de huéspedes intermediarios como fetos, membranas fetales u otros tejidos; c) control de la población de roedores reduciendo el potencial riesgo de infección para los huéspedes definitivos; d) compra de animales seronegativos d) evitar factores que probablemente favorezcan la reactivación de la enfermedad en los bovinos infectados crónicamente (alimentos con micotoxinas, condiciones de estrés o infecciones concomitantes con el virus de la DVB); e) la transferencia embrionaria desde madres infectadas a hembras receptoras no infectadas; f) utilización de semen de toros de razas carniceras en vacas seropositivas puede ser una alternativa para producir carne en los tambos; g) destinar a faena las hembras que sufran aborto y sean seropositivas; h) debido a la gran fluctuación del nivel de anticuerpos se recomienda su evaluación en dos oportunidades antes del primer servicio (6 y 15 meses de edad).

DIAGNÓSTICO DE HEMOPARÁSITOS EN CANINOS

Diego Fernando Eiras

Laboratorio de Inmunoparasitología, Departamento de Epizootiología y Salud Pública, FCV, UNLP, 60 y 118, La Plata, Buenos Aires, Argentina. Laboratorio DIAP (Diagnóstico en Animales Pequeños), Pueyrredón 1098, Banfield, Buenos Aires, Argentina. e-mail: diegoeiras@diap.com.ar

Los hemoparásitos son agentes infecciosos parasitarios transmitidos por vectores hematófagos que requieren de la localización permanente de al menos una de sus formas evolutivas en el sistema circulatorio o el tejido sanguíneo. En la práctica esto significa que la sangre entera es una muestra esencial para el diagnóstico. En un sentido más amplio esta definición podría también incluir a ciertos patógenos bacterianos que infectan las células de la sangre y poseen el mismo mecanismo de transmisión. De todas maneras, resulta más conveniente hablar de “patógenos transmitidos por vectores” a fin de englobar a todos estos agentes de transmisión vectorial, aunque no encajen perfectamente en la definición de hemoparásitos. Estos patógenos son transmitidos de diversas maneras por una amplia variedad de artrópodos hematófagos (garrapatas, vinchucas, mosquitos, flebótomos), mediante la picadura, la ingestión o las deyecciones del vector competente. En los perros, en general nos referimos a enfermedades transmitidas por vectores (siglas en Inglés CVBDs *canine vector borne diseases*) cuando hablamos de aquellas afecciones sistémicas con características clínico-patológicas similares que afectan la sangre y otros órganos y tejidos hemolinfáticos, producidas por patógenos de transmisión vectorial. Existen diversos factores como la deforestación, el cambio climático y la continua variación en los hábitos de las personas que multiplican las oportunidades de aparición de estas enfermedades en zonas anteriormente libres. En nuestro país, las enfermedades reportadas hasta ahora en perros son: filariasis (*Dirofilaria immitis*, *Acanthocheiloneuma reconditum*), piroplasmosis (*Babesia vogeli*, *Rangelia vitalii*), hepatozoonosis (*Hepatozoon canis*), trombocitopenia cíclica (*Anaplasma platys*), ehrlichiosis monocítica (*Ehrlichia canis*), tripanosomiasis (*Trypanosoma cruzi*, *T. evansi*) y leishmaniosis (*Leishmania infantum chagasi*). En lo que sigue se presenta muy resumidamente una aproximación diagnóstica de algunas de estas afecciones.

Dirofilariasis canina: el diagnóstico de *D. immitis* se realiza de manera directa mediante el hallazgo de microfilarias en sangre periférica. Se utilizan las siguientes técnicas: (1) observación de sangre anticoagulada en “gota gruesa” o en la interfase del capilar microhematocrito luego de la centrifugación y (2) concentración de microfilarias por filtración o test de Knott modificado. La confirmación de especie (necesaria en ciertas situaciones donde pueden coexistir otros filáridos) puede realizarse mediante la demostración de la actividad de fosfatasa ácida en determinadas regiones del cuerpo de las microfilarias o mediante diagnóstico molecular. La infección por *D. immitis* también puede diagnosticarse utilizando kits inmunocromatográficos comerciales que permiten la demostración rápida en el suero del paciente del antígeno uterino sintetizado por las hembras adultas del parásito. Tanto los métodos directos como la inmunocromatografía carecen de la capacidad de detectar a todos los animales infectados. En consecuencia, algunos perros con sospecha de infección pueden requerir diferentes métodos complementarios de diagnóstico.

Piroplasmosis canina: enfermedad transmitida por garrapatas que se diagnostica usualmente mediante técnicas directas que demuestran la presencia de merozoítos intraeritrocitarios en extendidos sanguíneos teñidos con coloraciones habituales (ej. May Grünwald – Giemsa). Este procedimiento permite identificar la parasitemia (expresada en porcentaje de glóbulos parasitados) y tiene un límite de detección de alrededor de 0,001 %. El tamaño de los merozoítos permite la diferenciación entre piroplasmas “pequeños” (<2,5 µm) o “grandes” (>2,5 µm) si bien no es posible definir la especie de piroplasma actuante usando microscopía óptica. En este sentido, el diagnóstico molecular ha permitido la identificación de varias especies de piroplasmas que afectan al perro en todo el mundo. En nuestro país, la piroplasmosis es producida por *B. vogeli* (reportada en Buenos Aires y Córdoba) y *R. vitalii* (presente en las provincias de la Mesopotamia). La primera es una especie relativamente poco patógena que en muchas oportunidades no se presenta con manifestaciones clínico-patológicas de importancia. En algunos casos puede producir cuadros importantes de anemia, especialmente cuando el proceso está asociado a otras patologías o coinfecciones. *Rangelia vitalii* produce una afección muy peculiar que se presenta clínicamente con sangrado espontáneo de las orejas (lo que le da el nombre de Nambiuví: orejas sangrantes en guaraní). Los merozoítos de ambas especies afectan los eritrocitos y en el caso de *R. vitalii* también los leucocitos y las células endoteliales. Existe evidencia de la presencia de *B. gibsoni* (un piroplasma pequeño descrito en Sudamérica solamente en Brasil), en perros de la provincia de Salta (datos no publicados).

PARASITOSIS DE LOS CAMÉLIDOS SUDAMERICANOS EN EL NOROESTE ARGENTINO (NOA)

María M. Cafrune¹, Sandra S. Romero², Daniel H. Aguirre¹

¹INTA CIAP IIACS/EEA Salta, Salta, Argentina. ²INTA IPAF NOA, Hornillos, Jujuy, Argentina.
cafrune.wierna@inta.gob.ar

Los camélidos sudamericanos (CS) son afectados por distintos parásitos, de importancia equivalente a la de aquellos que infestan a las especies más difundidas de rumiantes domésticos. Aunque son primariamente parasitados por especies propias, también resultan infestados por parásitos de otros tipos de ganado, sobre todo pequeños rumiantes con los que suelen compartir áreas de pastoreo. Algunos estudios en el NOA aportaron datos sobre los parásitos internos presentes y más prevalentes, como los nematodos gastrointestinales y los protozoarios específicos (*Eimeria* y *Sarcocystis*) en CS domésticos (llamas) y silvestres (vicuñas y guanacos). Entre los nematodos se reconocen seis especies de las cuales sólo tres fueron diagnosticadas hasta ahora en Argentina: *Camelostrongylus mentulatus*, *Lamanema chavezi* y *Trichuris tenuis*, el primero en llamas y los dos últimos en llamas, vicuñas y guanacos. Además, son parasitados por una especie aún indeterminada de *Capillaria*. *L. chavezi* constituye *per se* el nematode más deletéreo de los CS, dado su ciclo biológico con migración entero-hepática. Entre los helmintos más nocivos pero no propios de los CS destacan *Haemonchus contortus* y el trematode *Fasciola hepatica*, que a veces aparecen en conjunto y sumados a nematodos específicos de los CS. Cinco especies de *Eimeria* se reconocen como propias de los CS: *E. lamae*, *E. alpaca*, *E. punoensis*, *E. macusaniensis* y *E. ivitaensis*, todas diagnosticadas en Argentina, tanto en llamas como en vicuñas y, en el caso de *E. macusaniensis*, también en guanacos. Este última representa *per se* la especie de coccidio más nociva para los CS. La presencia de *Sarcocystis* sp. fue documentada en la musculatura de llamas, vicuñas y guanacos de la Argentina. Trabajos recientes basados en serología informaron amplia distribución y elevada prevalencia de la sarcocystosis por *S. aucheniae* en llamas de la provincia de Jujuy. Respecto de los parásitos externos los CS son parasitados por tres especies de piojos picadores del género *Microthoracius* (*M. praelongiceps*, *M. mazzai* y *M. minor*), y un piojo masticador, *Bovicola (Damalinia) breviceps*, todos diagnosticados en la Argentina. En cuanto a las garrapatas, sólo dos especies infestan a los CS del NOA: los estadios adultos de *Amblyomma parvitarsum* (Ixodidae) y larvas y ninfas de *Otobius megnini* (Argasidae), las que también parasitan a otras especies de ganado. Los ácaros de la sarna constituyen sin duda los ectoparásitos de mayor importancia sanitaria para los CS del NOA. La ocurrencia de brotes de sarna por *Sarcoptes scabiei* var. *aucheniae* muestra relativa frecuencia tanto en llamas como en vicuñas, alcanzando mayor gravedad en las últimas dadas las dificultades para su control en las poblaciones silvestres. Además, estudios locales recientes sugieren la ocurrencia de cuadros patológicos diferentes en cada especie como resultado de la infestación por *S. scabiei*. Finalmente, la sarna psoróptica, causada por *Psoroptes* sp., no fue confirmada en CS del NOA hasta donde los autores están informados. En términos generales, es limitado el conocimiento disponible en relación con la epidemiología de las infestaciones parasitarias en los CS del NOA. Y pese a ciertos avances recientes tampoco es demasiado el desarrollo y estandarización de técnicas para el diagnóstico de las parasitosis en estas especies. Se requieren más esfuerzos para revertir esta falta de conocimientos en un aspecto considerado crítico para el crecimiento de la producción de CS en la región.

PREVALENCIA SANITARIA EN CAMELIDOS SUDAMERICANOS – SITUACION EN NOA

ENFERMEDADES INFECCIOSAS

Romero S R*

*Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria- IPAF NOA - romero.sandra@inta.gob.ar

En el noroeste Argentino los camélidos representan el 95% de la población nacional de llamas y el 93% de vicuñas, teniendo además poblaciones reducidas de guanacos. Estas especies y en particular las domésticas, son fuente de fibra, carne, de trabajo y de muchos productos indispensables para la subsistencia de un amplio sector de la población de la puna. La producción de llamas en la zona, la llevan a cabo productores familiares con modalidades particulares como la crianza de varias especies juntas, tipo pastoril y con escasa tecnología de manejo. En el caso de la vicuña coexisten dos formas de manejo, la de criaderos de vicuñas en cautiverio y la de captura, esquila, liberación de poblaciones en silvestría. El impacto del estado sanitario del ganado doméstico y de las especies silvestres impacta de diferentes maneras en la producción y en la salud comunitaria. Se han reportado un amplio espectro de enfermedades infecciosas y parasitarias en camélidos. Algunas de ellas se corresponden a patógenos especie específicos y en otros casos enfermedades propias de otras especies domésticas con las que cohabitan. La mayor parte de la información generada sobre sanidad en CSA proviene de países vecinos con mayor población camélida (distribución natural) o de casuísticas respecto a individuos criados en otros lugares del mundo como Australia y Estados Unidos. En la región NOA de nuestro país se han realizado algunos estudios aislados con variadas metodologías de muestreo sobre enfermedades infecciosas y parasitarias tanto en llamas como vicuña que han aportado datos sobre agentes patógenos circulantes. La información se basa principalmente en relevamientos serológicos y en general representan infecciones interespecie. En el caso de Rotavirus se encontraron prevalencias altas tanto en silvestres como domésticos y se identificaron cepas. En llamas de la puna jujeña se reportaron prevalencias de 70 % para el virus Parainfluenza-3 Bovina, mientras que Herpesvirus Bovino 1 fueron más bajas y sin reactores positivos para Influenza A Humana e Influenza Equina. Hay reportes de vicuñas seropositivas a Herpesvirus Bovino 1 en las provincias de Salta y Catamarca. En llamas y vicuñas hay datos de prevalencia para Diarrea Viral Bovina de hasta 15% y 30% respectivamente, en zonas donde hay solapamiento de hábitat con otras especies. Para Fiebre Aftosa los resultados fueron negativos sosteniendo hasta el momento la baja susceptibilidad de la especie a esta enfermedad. Las enfermedades bacterianas como Brucelosis y Paratuberculosis otorgaron resultados negativos. La seroprevalencia detectada en Leptospirosis analizando diferentes serogrupos fue variable, en llamas de Catamarca y Jujuy entre 53,3% a 96,2%, vicuñas de Salta y Catamarca más de 60% (año 2002) y títulos bajos en estudio en llamas de la provincia de Jujuy, año 2009. El análisis serológico para Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en llamas de Jujuy arrojó como resultado una prevalencia de 0,23%. Toda la información relevada no es concluyente puesto que el conocimiento sobre las enfermedades de los camélidos sudamericanos en el NOA sigue siendo insuficiente y existe en algunos casos disparidad o diferencia con antecedentes en otras regiones. Las investigaciones epidemiológicas amplias y con muestras más importantes son dificultadas por la atomización de las unidades productivas y el tipo de manejo del ganado doméstico y de poblaciones silvestres. En el caso de enfermedades específicas la incertidumbre es mayor debido a escasa casuística debidamente estudiada. Las técnicas diagnósticas son variadas incluso para un mismo agente etiológico, en algunas situaciones no están estandarizadas y especificadas para camélidos y otras se encuentran en etapa de desarrollo.

RESUMENES DE TRABAJOS

BACTERIOLOGIA

B1- DESCRIPCIÓN DE UN BROTE DE BRUCELOSIS CAPRINA, A PARTIR DE UN BROTE EN HUMANOS

Delgado¹, MG; Arregui², M; Navarro¹, M; Spina¹, MJ; Rey¹, JP; Garro², C; Rodríguez¹, M; Samartino², L

¹: Programa de Producción Agropecuaria y Arraigo Rural (PAYAR). M de MA, Campo y Producción. Gobierno de San Luis. ²: Instituto de Patobiología. Centro de Investigaciones en Ciencias Veterinarias y Agronómicas. INTA Castelar E mail:

mariagabrieladc@speedy.com.ar

INTRODUCCIÓN

La Provincia de San Luis es reconocida como provincia endémica en brucelosis caprina, con una baja a mediana prevalencia. Desde el año 2011, el Gobierno de la Provincia ha implementado un Plan de Control de la brucelosis, caracterizado por una modalidad abarcativa, obligatoria y extensiva en el tiempo. Inicialmente, el Plan comenzó en el Departamento Belgrano, posteriormente se extendió a Gral. San Martín y actualmente se encuentra en ejecución en los departamentos Ayacucho y Junín.

Ante una denuncia proveniente de salud pública, acerca de 8 casos confirmados de brucelosis en humanos, con una procedencia común: periferia del paraje La Botija (Departamento Ayacucho); técnicos del Programa PAYAR¹, visitaron la zona recabando información de interés epidemiológico y recolectando muestras de sangre de especies susceptibles, a partir de los establecimientos involucrados. El objetivo de esta intervención fue por un lado relacionar el brote de brucelosis en humanos con el posible diagnóstico en animales de idéntico origen, mensurar el problema, delimitando su alcance y fundamentalmente controlar y limitar su extensión.

MATERIALES Y MÉTODOS:

Teniendo en cuenta la procedencia de las 8 personas afectadas, 3 menores de 4- 8 años, 4 mujeres y 1 un adulto, residentes en 3 establecimientos, se comenzaron las acciones que incluyeron encuestas y la extracción de sangre en el ganado, fundamentalmente caprino; extendiendo los muestreos a 7 establecimientos más, total: 10, relacionados epidemiológicamente. Los datos recolectados incluyeron características de la enfermedad en las personas: tiempo transcurrido desde los primeros síntomas, diagnósticos, posibles fuentes de infección y en cuanto a los animales, pastoreo comunitario, intercambio -préstamo – comercialización de reproductores, presencia de signos reproductivos: abortos, muerte perinatal, otros.

Se recolectaron 598 muestras caprinas, 64 muestras ovinas y 84 muestras bovinas. Las muestras se remitieron al laboratorio provincial: Laboratorio del Campo, para su procesamiento según normas de Procedimiento del Laboratorio de Red. Como prueba tamiz se realizó BPA, en tanto las pruebas Lenta en Tubo y 2- Mercaptoetanol (ME), se usaron como complementarias, según SENASA, 2009. Finalmente, tanto las muestras positivas como sospechosas fueron remitidas al Laboratorio de Brucelosis del Instituto de Patobiología de INTA- Castelar, para confirmación a través de la prueba de Fijación de Complemento (FC).

RESULTADOS:

De los 10 establecimientos analizados, 9 resultaron positivos. En los establecimientos con caprinos positivos a brucelosis, la prevalencia media intra-majada fue del 14 % con un mínimo del 1% (1/65) y un máximo del 29%(18/62). De estos establecimientos caprinos positivos, cinco criaban ovinos de los cuales 3 (60%) presentaban ovejas positivas a brucelosis. De similar manera, dos establecimientos criaban también bovinos y en ambos se detectaron bovinos positivos a brucelosis. La prevalencia general de brucelosis fue del 16 % (98/598) en caprinos, 19 % (16/84) en bovinos y del 8% (5/64) en ovinos. En cuanto al relevamiento epidemiológico, los establecimientos analizados se relacionaban entre sí, ya que compartían en algunos casos pastoreo común, otros compartían corrales, varios de ellos mencionaron el entremezclado de las majadas como frecuente y particularmente uno de ellos, fue identificado como proveedor de animales mejoradores de sangre. Éste último, realizaba la reposición con animales comprados en provincias vecinas (preferencialmente Mendoza). Se pudo observar la presencia de un macho adquirido en Mendoza, 2-3 años antes, que mostraba orquiepididimitis

bilateral y que resultó serológicamente positivo. También este establecimiento mostró una prevalencia intramajada inicial de 29% en caprinos, 30% de ovinos y 28% de bovinos seroreactores.

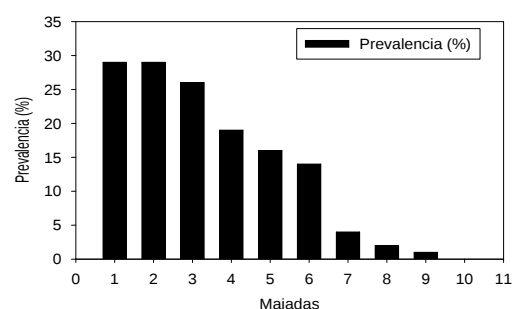


Figura 1: Prevalencia intra-majada encontrada en los 10 establecimientos evaluados. Los establecimientos 1, 3 y 6 presentaron casos de brucelosis en personas.

Los ovinos y caprinos positivos, de los establecimientos analizados, fueron segregados y posteriormente sacrificados, realizando reposición con caprinos controlados sanitariamente, provenientes del módulo genético de la Provincia. En cuanto a la brucelosis en las personas, algunas de ellas diagnosticadas un año antes, manifestaron en general la preferencia de no consumir productos o subproductos caprinos, no obstante pudo observarse y confirmado por ellos, que niños y mujeres comprenden el grupo responsable del manejo de las majadas, trabajando habitualmente en los corrales y asistiendo a las cabras en diferentes períodos.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

La situación de la brucelosis caprina, muestra una importante diversidad en cuanto a prevalencia y estrategias de control. La Provincia de San Luis, lleva adelante un plan basado en la determinación de prevalencia por departamento, según diseño estadístico. En función de los resultados se determina la estrategia a implementar. Tanto en el departamento Belgrano como en Gral. San Martín, la baja prevalencia determinó la estrategia seleccionada: diagnóstico- segregación de positivos y posterior reposición. Respecto al Departamento Ayacucho, los establecimientos analizados hasta la fecha, excluyendo la zona de estudio, muestra también una baja prevalencia (40 majadas y 1682 animales, sin presencia de reaccionantes). Por otro lado, algunas provincias con alta prevalencia de brucelosis como Mendoza o San Juan, han optado por la vacunación de sus animales como único método de control, sin realizar diagnóstico/eliminación de animales positivos.

Los frecuentes movimientos entre regiones o provincias con diferentes prevalencias, con o sin estrategias de control, pueden determinar la aparición de brotes. En el caso descripto, los movimientos informados, refieren al ingreso de animales desde zonas de alta prevalencia, puntualmente Mendoza, a zonas de baja prevalencia. Esta situación puede desencadenar la aparición de brotes donde, además de afectar la producción caprina; queda expuesto el poblador de riesgo: fundamentalmente niños y mujeres que manejan las majadas.

El trabajo que hemos realizado durante estos años en la Provincia de San Luis apunta precisamente a tener una producción caprina sin brucelosis y de este modo evitar la transmisión a toda la familia rural.

BIBLIOGRAFÍA:

Robles, C; Gaido, A; Späth, E; Torioni, S; Vanzini, V; Zielinski, G; Aguirre, D; Samartino, L; Rossanigo, C. (2014) Brucelosis Caprina en la Argentina. INTA, Argentina.

B2- TUBERCULOSIS PORCINA: CORRELACIÓN ENTRE TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO Y MOLECULAR A PARTIR DE DECOMISOS DE FRIGORÍFICOS.

Pietronave, J¹; Barandiaran, S¹; Falzoni, E¹; Zumárraga, M²; Bonzo, E³; Campos, B¹; Martínez Vivot, M¹.

¹ Cátedra de Enfermedades Infecciosas. FCV-UBA. ² Instituto de Biotecnología, CICVyA-INTA, Castelar

³ Epidemiología y Salud Pública Básica FCV-UNLP jpietronave@gmail.com

INTRODUCCIÓN

La producción porcina de nuestro país es reconocida como un sector estratégico por sus amplias posibilidades de desarrollo y crecimiento, planteando un desafío en lo que respecta a su sanidad. Las exigencias del mercado externo nos obligan a avanzar con los planes de control y erradicación de enfermedades, como la tuberculosis. Estas limitan las posibilidades económicas del sector y la comercialización internacional, influyendo negativamente en la rentabilidad de las explotaciones y en la calidad de los productos de origen animal. Es por ello que en febrero de 2009, en Argentina, por medio de la Resolución SAGPyA 145/2009 se establece el procedimiento para la "Certificación de Predios Libres de Tuberculosis Porcina", combinando la utilización de pruebas tuberculínicas con la inspección en faena.

La tuberculosis en los porcinos es una enfermedad infecto-contagiosa, crónica, producida por bacilos ácido alcohol resistentes del género *Mycobacterium*. Se trata de una zoonosis de riesgo profesional, siendo los más expuestos los trabajadores rurales, los de la industria frigorífica y los veterinarios.⁽¹⁾

La prueba de oro para el diagnóstico de tuberculosis a partir de lesiones compatibles con tuberculosis (LCT) es el cultivo bacteriológico, con posterior confirmación de las características tintoriales de los microorganismos aislados en pureza. En los últimos años, las técnicas de diagnóstico molecular, como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), aparecieron como una alternativa diagnóstica, ya que permiten obtener resultados con mayor celeridad que el tradicional cultivo, con altos niveles de sensibilidad y especificidad.⁽²⁾

El **objetivo** del presente trabajo es establecer la concordancia entre el diagnóstico molecular (PCR directa de tejidos) y bacteriológico (cultivo) de tuberculosis a partir de las LCT.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se analizaron 148 muestras con LCT provenientes de decomisos porcinos de establecimientos faenadores de la provincia de Buenos Aires. Se consideraron LCT a aquellas lesiones macroscópicas granulomatosas caseo-necróticas y/o proliferativas histiocitarias.⁽⁴⁾

Las mismas fueron analizadas por PCR, utilizando como secuencia blanco a la secuencia de inserción IS6110. La extracción de ADN fue realizada directamente de tejidos, utilizando el kit comercial "Dneasy blood and tissue" (Qiagen). A su vez, fueron procesadas por métodos bacteriológicos, utilizando el método de decontaminación de Petroff y cultivadas en los medios Stonebrink y Löwenstein Jensen.

Para establecer la concordancia se empleó el coeficiente kappa, mediante Epidat V4.1. Se utilizó la escala propuesta por Landis y Koch: valores de kappa <0,20: concordancia pobre; 0,21-0,40: débil; 0,41-0,60: moderada; 0,61-0,80: buena, y 0,81-1,00: muy buena.

En este estudio se obtuvo un valor de **0,2135 (IC95%: 0,046-0,3810)** considerado débil según la escala propuesta.⁽⁵⁾

RESULTADOS

Tabla 1. Resultados de Cultivo y PCR en 148 muestras de cerdos provenientes de frigoríficos de la provincia de Buenos Aires

Cerdos	Cultivo (+)	Cultivo (-)	Total
PCR +	81	25	106
PCR -	23	19	42
Total	104	44	148

DISCUSIÓN

La discrepancia de estos resultados puede deberse a la variación de la sensibilidad y especificidad de ambas pruebas diagnósticas⁽⁶⁾. En este trabajo, de las muestras cultivadas que dieron negativas, el 57% de las mismas presentaron PCR positiva directa de órgano. Si bien el diagnóstico bacteriológico es el Gold Standard para el diagnóstico de esta enfermedad, aparecen como principales desventajas el complejo procesamiento de la muestra, la demora de hasta 60 días en obtener resultados y que los mismos dependen de la viabilidad de los microorganismos. Un punto crítico, capaz de afectar los resultados, es el proceso de decontaminación de la flora acompañante, previa a la siembra, ya que puede reducir el número de UFC (unidades formadoras de colonias) viables con el consiguiente aumento de resultados falsos negativos⁽³⁾.

El diagnóstico molecular aparece como una alternativa para el diagnóstico de la tuberculosis. Una de las principales ventajas de esta técnica es la celeridad con la que se obtienen los resultados (2 - 3 días), los cuales son independientes de la viabilidad del microorganismo. También, posee elevados niveles de especificidad y sensibilidad. Sin embargo, existen varios factores que pueden modificar la sensibilidad de la prueba diagnóstica, como sustancias inhibitorias en las muestras de tejidos y la accesibilidad a los reactivos utilizados para la misma. Asimismo, hay variaciones en la sensibilidad de la técnica de acuerdo al kit comercial de extracción de ADN disponible.

CONCLUSIONES

La PCR directa de tejidos es un método rápido, eficaz, simple y cada vez más utilizado, que permitiría la confirmación del diagnóstico en frigorífico, a partir de LCT, en forma rápida y sencilla. Sería beneficiosa su aplicación en el marco de la certificación de predios libres de tuberculosis porcina. Pero, la débil concordancia que ha resultado en este trabajo, merece prudencia en la respuesta que se debe dar a una muestra procesada tanto sólo por PCR directa de órgano como sólo de cultivo bacteriológico.

Sería importante aplicar ambas técnicas de diagnóstico para aumentar la sensibilidad de detección de tuberculosis para potenciar el saneamiento de la enfermedad en las piaras.

BIBLIOGRAFÍA

1. Corner, L. (2006). Role of wild animal populations in the epidemiology of tuberculosis in domestic animals: how to assess the risk. *Vet Microbiol* 25,112 (2-4):303-12.
2. Radostits, O. y col. (1994). *Vet. Med.* 8ª edición. Ed. Baillière Tindall, Londres, Gran Bretaña.
3. Medeiros L y col. (2012). Comparison of decontamination methods for primary isolation of *Mycobacterium bovis* in paucibacillary bovine tissues. *Let. Appl. Microbiol. Mar*, 54(3):182-6. Epub 2011 Dec 21.
4. Martínez Vivot, M. y col. (1996). Inter-species transmission of *Mycobacterium bovis* in Argentina: molecular analysis. *Tubercle Lung Dis.* 77 (Suppl. 2):121.
5. Landis J.R. y Koch G.G. (1977) The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 33:159-174.
6. Courcou, A., Moyen, J.L., Brugère, L. Faye, S., Gares, H., Boschirol, M.L. (2014): Estimation of Sensitivity and specificity of bacteriology, histopathology and PCR for the confirmatory diagnosis of bovine tuberculosis using latent class analysis. *PLOSOne*, 9(3), 1 - 8.

B3- SUSCEPTIBILIDAD A ANTIBIÓTICOS DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* AISLADOS DE MASTITIS BOVINA EN ESTABLECIMIENTOS DE LA CUENCA CENTRAL DE ARGENTINA

¹Neder, V.E; ²Araujo L., ¹Gianre VR, ¹Calvinho, LF

1 EEA INTA Rafaela, 2 Escuela de Veterinaria, USAL
calvinho.luis@inta.gob.ar

Introducción

Staphylococcus aureus es uno de los patógenos mayores de mastitis más prevalente en los rebaños bovinos lecheros a nivel mundial. La terapia antimicrobiana es una de las bases de los programas de control de mastitis bovina causada por este organismo. Si bien las pruebas para determinar la susceptibilidad de *S. aureus* frente a los antibióticos no siempre predicen con eficacia el resultado de la terapia, existe consenso sobre la utilidad de las mismas para seleccionar los antimicrobianos en forma racional (Calvinho et al., 2002; Gentilini et al., 2000). Además, el estudio de la evolución de la resistencia a los antimicrobianos proporciona información de utilidad con relación al uso de estas drogas en el ganado lechero. El objetivo de este estudio fue determinar la susceptibilidad de *S. aureus* aislados de muestras de leche provenientes de establecimientos de la cuenca lechera central de Argentina frente a antibióticos seleccionados de uso frecuente en el tratamiento de la mastitis bovina.

Materiales y Métodos

Se evaluaron 96 *S. aureus* aislados a partir de muestras de secreción mamaria de vacas con mastitis clínicas y subclínicas, provenientes de 40 establecimientos lecheros de la cuenca central de la Argentina. Los aislamientos caracterizados como pertenecientes al género *Staphylococcus* fueron identificados utilizando métodos fenotípicos convencionales (Oliver et al., 2004). La susceptibilidad a antibióticos se evaluó por el método de difusión en agar (CLSI, 2013) utilizando los siguientes discos de antimicrobianos: penicilina G (10 U); oxacilina (1 µg), eritromicina (15 µg); amoxicilina + ac clavulánico (30 µg), ceftiofur (30 µg), cefalexina + kanamicina (15 µg/ 30 µg), cefquinoma (30 µg), cefalexina (30 µg) y frameticina + penicilina G (100 µg/10 UI) y como control de calidad *S. aureus* ATCC 25923. Los resultados se interpretaron de acuerdo con criterios del CLSI (2013), salvo para los discos de frameticina+penicilina, cefalexina+kanamicina y cefquinoma, para los cuales se utilizaron criterios desarrollados por los fabricantes.

Resultados

Los resultados se presentan en la Tabla 1.

Tabla Nº 1. Susceptibilidad a antimicrobianos (%) de cepas de *S. aureus* (n=96) aislados de mastitis bovina en la cuenca central de la Argentina.

Antimicrobiano	Suscept %	Inter %	Resist %
Penicilina	71,88	-	28,12
Cefalexina	98,96	-	1,04
Ceftiofur	94,79	4,17	1,04
Cefquinoma	77,08	21,88	1,04
Oxacilina	100	-	-
Amox + ac.clavulánico	96,88	-	3,12
Cefalexina + Kanamicina	71,88	13,54	14,58
Frameticina+Penicilina	80,21	1,04	18,75
Eritromicina	20,84	76,04	3,12

Siete aislamientos (7,3%) mostraron resistencia a dos o más antibióticos.

Discusión y Conclusión

Se observó una menor resistencia a penicilina comparado con estudios previos; mientras que la combinación penicilina+frameticina se mostró más activa que la penicilina

sola, detectándose un menor porcentaje de aislados resistentes (Calvinho et al., 2002; Gentilini et al., 2000). No se detectaron aislamientos resistentes a la oxacilina, lo cual coincide con estudios realizados en Argentina durante las dos décadas pasadas (Calvinho et al., 2002; Gentilini et al., 2000), corroborando que el mecanismo de resistencia más frecuentemente observado en Argentina es por presencia de betalactamasas. Sin embargo, la detección de aislados de *S. aureus* meticilino-resistentes de bovinos en otros países como un patógeno emergente indica la necesidad de establecer sistemas de monitoreo para la identificación (Pellegrino et al., 2011). La combinación cefalexina+ kanamicina no se mostró más activa *in vitro* que la monodroga cefalexina. Un 14,58% de los aislados fueron resistentes a esta combinación de antimicrobianos, lo que fue mayor a lo hallado en estudios previos. Frente a las cefalosporinas de tercera (ceftiofur) y cuarta generación (cefquinoma), así como a la combinación amoxicilina+ác.clavulánico, se observó una muy baja resistencia, lo cual concuerda con estudios previos realizados en nuestro y otros países (Pellegrino et al., 2011).

La resistencia a la eritromicina fue similar a la reportada en la mayoría de los estudios realizados en nuestro país (Calvinho et al., 2002; Gentilini et al., 2000). Al evaluar los perfiles de resistencia, 7 cepas (7,3%) mostraron resistencia a dos o más antibióticos. Cabe destacar que el 3,12% (3/96) a eritromicina y penicilina y el 2,06% (2/96) a amoxicilina + ac. clavulánico y penicilina. Pellegrino et al. (2011) en Argentina informaron un perfil de resistencia múltiple del 19%.

En conclusión, los porcentajes de resistencia de *S. aureus* frente a la mayoría de los antibióticos fueron bajos, salvo frente a penicilina, aunque se observó menor resistencia que en estudios previos. Si bien el porcentaje de aislados con resistencia a más de un antibiótico no es elevado, es oportuno mantener estudios periódicos de monitoreo para detectar desviaciones de estos patrones.

Bibliografía

Calvinho LF, Toselli FG, Weimann WR, Canavesio VR, Neder VE, Iguzquiza IA. Susceptibilidad en estafilococos coagulasa positivos. Rev. Argent. Microbiol. 2002; 34:171-175.

CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals. Clinical Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA.2013; Vol. 28, No. 8. 4th ed. Approved standard, VET01-A4.

Gentilini E, Denamiel G, Llorente P, Godaly S, Rebuelto M, DeGregorio O. Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Argentina. J. Dairy Sci. 2000; 83:1224-1227.

Oliver SP, Gonzalez RN, Hogan JS, Jayarao BM & Owens WE. Microbiological Procedures for the Diagnosis of Bovine Udder Infection and Determination of Milk Quality; 4th edition; National Mastitis Council, Verona, WI, USA.2004

Pellegrino M, Frola I, Odierno L, Bogni C. Mastitis bovina: Resistencia a antibióticos de cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de leche. REDVET- Rev. electrón vet. 2011; Vol. 12 Nº7:1-14.

<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n070711.html>

B4- VALOR DIAGNÓSTICO DEL ANTÍGENO TERMO RESISTENTE PARA DETERMINAR ANTICUERPOS ANTI-LEPTOSPIRA EN SUERO DE VACAS ABORTADAS

Zimmer, PA¹; Biotti², GM; Draghi³, MG; Brihuega, BF⁴

¹ zimmer.patricia@inta.gob.ar AER-INTA-Formosa. ² EEA-INTA Mercedes. ³ Actividad Privada. ⁴ Instituto de Patobiología, INTA Castelar.

Introducción. La leptospirosis es una enfermedad zoonótica, que afecta a animales domésticos, silvestres y al hombre. El agente causal es una espiroqueta del género *Leptospira*, este agente está ampliamente distribuido en el ambiente. En las hembras bovinas preñadas, la leptospirosis puede producir abortos, terneros natimortos, nacimientos de terneros débiles e infertilidad. El diagnóstico de la vaca abortada, permite determinar si el aborto se debe a la acción de agentes patógenos o a otras causas. Se determinó que la leptospirosis fue la causa infecciosa de aborto o muerte perinatal más importante en el nordeste argentino. El diagnóstico se realiza en la vaca abortada, y la técnica confirmatoria es la Microaglutinación (MAT), esta técnica tiene un 100% de sensibilidad y especificidad. La macroaglutinación con antígeno termo resistente (TR), fue utilizada en sueros humanos y posteriormente en caninos. En caninos se demostró que el TR tiene una buena sensibilidad y especificidad comparándola con la MAT, se considera su uso como técnica tamiz, en muestras de perros con sospechas de leptospirosis ⁽¹⁾. Este trabajo tuvo como objetivos evaluar sueros bovinos de vacas abortadas con la técnica de TR y MAT en las 1° muestras (1°M), para ver la correlación de sus resultados; evaluar con la técnica de TR y MAT las 2° muestras (2°M), para ver la correlación de sus resultados y comparar el resultado final de MAT (seroconversión) y el TR.

Materiales y Métodos. Se estudiaron sueros de 66 vacas que sufrieron abortos, de las cuales se recibieron 1° y 2° muestras, analizándose un total de 132 sueros con la técnica de MAT y TR. Las muestras procedieron de ocho establecimientos ganaderos, de cinco departamentos de la provincia de Corrientes, y un departamento de la provincia de Formosa. Una vez ingresadas las muestras al laboratorio fueron identificadas individualmente, centrifugadas a 2500 rpm durante 15 minutos, fraccionadas y conservados en freezer a -20°C. Para la realización de la técnica de TR, se utilizaron 40 µl de antígeno TR y 40 µl del suero problema, se mezcló por agitación continua durante cuatro minutos, la lectura se realizó en aglutinoscopio, el control positivo utilizado fue suero hiperinmune. Para la MAT se utilizaron antígenos de los serogrupos: serovar Castellonis cepa Castellon 3; serovar Canicola cepa Hond Utrecht IV; serovar Copenhageni cepa M20; serovar Grippotyphosa cepa Moskva V; serovar Pomona cepa Pomona; serovar Wolffi/Hardjo cepas 3705 y Hardjoprajitno y serovar Tarassovi cepa Perepelicin, la concentración del mismo fue de 1x10⁸ leptospirosis/ml, con una dilución inicial de 1/200 y las consecutivas de 1/400, 1/800, 1/1600, 1/3200 y 1/6400. Posteriormente se incubó en estufa a 29°C ± 1°C, durante 2-4 horas, la lectura se realizó en microscopio de campo oscuro. Interpretación de MAT: dos muestras que provengan del mismo animal, en las que exista una diferencia de 15-21 días entre el muestreo, se considera muestra positiva, cuando se evidencie un aumento o disminución de por lo menos 3 diluciones entre ambas.

Resultados. A partir de los 66 sueros de la primera muestra, 15 tuvieron títulos detectables a los serovares Pomona, Wolffi y Hardjo en las diluciones 1/200, 1/400 y 1/800. Con TR se observaron 18 sueros positivos. De los 66 sueros de la 2° muestra, 14 tuvieron títulos detectables a los serovares Pomona, Wolffi, Hardjo en las diluciones 1/200 y 1/400. Con TR se observaron 13 sueros positivos.

		Kappa	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPP
1°M	TR/1°M	0.5%	73%	86%	61%	91%
MAT						
2°M	TR/2°M	0.4%	57%	90%	61%	88%
MAT						
1°M	TR/Seroconv.	0.3%	100%	82.5%	21%	100%
MAT						
2°M	TR/Seroconv.	0.05%	33%	80%	7%	96%
MAT						

Tabla 1: Comparación de resultados obtenidos con TR, MAT y Seroconversión.

Discusión. Los serovares detectados fueron, Pomona y Wolffi coinciden con los detectados en muestras de vacas abortadas en la provincia de Corrientes ⁽²⁾. Del análisis de las 1° muestras, se observa una concordancia aceptable entre las técnicas de TR y MAT, esto puede deberse a que no hay una gran variación entre lo observado y lo esperado. Los valores de sensibilidad 73%, especificidad de 86% y VPN de 91%, se deben al número bajo de falsos negativos. A partir del análisis de las 2° muestras, se puede observar una concordancia moderada entre las técnicas de TR y MAT. La sensibilidad de estas muestras es baja para la técnica de TR. A partir del análisis de las 1° muestras y la seroconversión, no se observa concordancia entre las técnicas de TR y MAT, esto puede deberse a la gran variación entre lo observado y lo esperado. Con respecto a la sensibilidad (100%) se observa que todos las muestras que resultaron positivas a TR, también lo fueron a MAT, y al tener un VPN del 100% podemos inferir ambas técnicas detectan como negativos a animales que no presentan la enfermedad. Resultados similares fueron observados en comparaciones realizadas con estas dos técnicas con sueros de pacientes humanos ⁽³⁾. A partir de las 2° muestras y la seroconversión, no se observa concordancia entre las técnicas de TR y MAT. Las variaciones observadas, puede deberse a las diferencias en las concentraciones de IgM e IgG al momento de la toma de muestras, y a la capacidad de detección de cada técnica.

Conclusión. Se pudo determinar que el análisis de la 1° muestra con la técnica de TR, puede ser utilizada como una orientación rápida y temprana del diagnóstico de *Leptospira* spp. Este método rápido, la recopilación de antecedentes y a las características de la presentación de la enfermedad, permiten tomar decisiones sobre las medidas higiénico-sanitarias que puedan reducir las pérdidas por abortos y la exposición del personal.

Bibliografía. Brihuega B., Hutter E.1997.Técnicas de diagnóstico rápido para leptospirosis. *Revista de Medicina Veterinaria*. 178 (2):150-155. 1997.

-Draghi MG, Soni C, Beckwith B, Zurbriggen MA, Homse AC, Rochinotti D. Principales causas de mortalidad perinatal en bovinos en el Nordeste Argentino. *Med Vet*. 2006; 4: 140-143.

-Seijo AC, Mazzonelli J. Evaluación del antígeno termorresistente en el diagnóstico de la leptospirosis humana. *Acta bioquím. clín. latinoam*.1993; 27(4):487-91.

B5- SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE CEPAS DE SALMONELLA SPP. AISLADAS DE TERNEROS DE TAMBOS DE URUGUAY

M.L. Casaux¹, C.O. Schild¹, R.D. Caffarena¹, F. Giannitti¹, F. Riet-Correa¹, M. Fraga¹

¹Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), La Estanzuela, Colonia, Uruguay

Correo electrónico del autor: lcasaux@inia.org.uy

INTRODUCCIÓN

La salmonelosis es una enfermedad infecciosa zoonótica. En bovinos la infección, se puede presentar en forma entérica, septicémica, o asintomática. Los terneros clínicamente afectados con la forma entérica cursan con diarrea, deshidratación y pérdida de peso, mientras que la forma septicémica se asocia a fiebre, enfermedad respiratoria y/o muerte súbita¹. En vacas preñadas puede producir aborto. Los hallazgos patológicos son linfadenomegalia mesentérica, enterocolitis; esplenomegalia, esplenitis y hepatitis. En la forma septicémica, puede observarse edema y congestión pulmonar, o neumonía embólica⁵. Los antibióticos son la primera opción terapéutica para la salmonelosis clínica en terneros, y su uso indiscriminado puede resultar en disminución de la sensibilidad a los mismos. La presencia de β -lactamasas de espectro extendido y resistencia a fluoroquinolonas han sido reportados en aislamientos de animales de producción², así como ha sido reportada la transmisión de cepas multi-resistentes a los antibióticos de los bovinos al hombre⁴. El objetivo de este trabajo fue evaluar la resistencia a antimicrobianos de cepas de *Salmonella* spp. aisladas de terneros de tambos de Uruguay muertos naturalmente en brotes de diarrea neonatal.

MATERIALES Y MÉTODOS

Origen de las muestras: Se procesaron 87 muestras provenientes de 14 necropsias de terneros de 0-28 días de edad en el periodo marzo-junio de 2016. Los órganos procesados se listan en la Tabla 1.

Aislamiento e identificación bacteriana: Las muestras fueron sembradas en agar MacConkey y agar sangre e incubadas a 37°C, en aerobiosis por 18-24 h. Las colonias con características compatibles con el género *Salmonella* se repicaron en agar tripticosa soya para obtener cultivo puro y realizar las pruebas bioquímicas convencionales.

Prueba de sensibilidad antimicrobiana: Las cepas aisladas fueron sometidas a una prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de difusión en agar. Los antimicrobianos (OXOID® UK) evaluados fueron ampicilina 10 (AMP), cefotaxima 30µg (CTX), amoxicilina-clavulánico 30 µg (AMC), cloranfenicol 30 µg (C), sulfametoxazol-trimetoprim 25 µg (SXT), enrofloxacin 5 µg (ENR), tetraciclina 30 µg (TE), gentamicina 10 µg (CN), ácido nalidixico 30 µg (NAL), estreptomycin 10 µg (S), y ciprofloxacina 5 µg (CIP). La interpretación de los resultados se realizó según las normas del "Clinical Laboratory Standards Institute"³.

RESULTADOS

Se aislaron 44 cepas de *Salmonella* spp. en 50,6% de los tejidos procesados (Tabla 1). En la prueba de sensibilidad a los antimicrobianos se observó que 39 cepas (83,63%) fueron sensibles a NAL, 11 (25%) a S, 35 (79,54%) a CIP, y 14 (31,81%) a TE. El total de las cepas aisladas (44) fueron sensibles a CN, AMP, AMC, SXT, ENR, CTX y C. En dos aislamientos (4,54%) se observó sensibilidad intermedia a NAL, en tres (6,81%) a S y nueve (20,45%) a CIP. En tres (6,81%) aislamientos se observó resistencia a NAL, en 30 (68,18%) a S y a TE (Gráfico 1). No se obtuvieron cepas resistentes a β -lactámicos, sin embargo, se observaron los siguientes perfiles de resistencia: 30 cepas (68,18%) a TE y S; y tres cepas multi-resistentes a TE, NAL y S.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

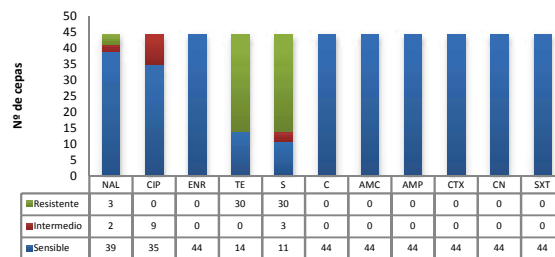
La mayor parte de los aislamientos de *Salmonella* spp. en este trabajo se obtuvieron de órganos (linfonódulo mesentérico, pulmón, hígado, intestino, bazo y riñón) de terneros que murieron con signos clínicos de diarrea y septicemia. Además hubieron aislamientos en orina, en los que se observó resistencia antimicrobiana, lo cual podría representar una fuente de eliminación de cepas resistentes al ambiente, junto con la materia

fecal. Las principales resistencias se corresponden con los antibióticos utilizados rutinariamente en animales de producción. La presencia de multi-resistencia antibiótica y la disminución de la sensibilidad a grupos de antimicrobianos limitan las opciones terapéuticas; lo que requiere un estudio más profundo de los mecanismos de resistencia implicados, dado el carácter zoonótico de *Salmonella* spp. Estudios de serotipificación y evaluación de bases genéticas de resistencia a los antimicrobianos, deben ser realizados en Uruguay por tratarse de una enfermedad que afecta la producción ganadera y la salud pública.

Tabla 1. Aislamientos de *Salmonella* spp. en órganos de necropsias de terneros (n:14)

Muestras procesadas	Nº de procesamiento	Aislamientos de <i>Salmonella</i> spp.
Linfonódulo mesentérico	13	10
Pulmón	11	6
Hígado	11	6
Intestino	7	4
Riñón	5	4
Bazo	6	3
Orina	7	3
Contenido intestinal	12	3
Bilis	8	3
Linfonódulo mediastínico	1	1
Líquido cefalorraquídeo	2	1
Líquido peritoneal	1	0
Líquido pericárdico	2	0
Abomaso	1	0
Total	87	44

Gráfico 1. Resultados de la sensibilidad antimicrobiana por el método de difusión con agar de cepas de *Salmonella* spp. aisladas de terneros



Referencias

- Nielsen LR. Review of pathogenesis and diagnostic methods of immediate relevance for epidemiology and control of *Salmonella* Dublin in cattle. *Vet Microbiology*, 2013, 162(1):1-9.
- Hur J, Jawale C, Lee JH. Antimicrobial resistance of *salmonella* isolated from food animals: A review. *Food Res Int*, 45(2):819-830.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Disk diffusion. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 25th informational supplement, 2015; M100-S25. Wayne, Pa, USA.
- Wall PG, D Morgan, K Lamden, M Griffin, EJ Threlfall, LR Ward, B Rowe. Transmission of multiresistant strains of *Salmonella* tiphymurium from cattle to man. *Vet Rec* 1995, 136:591-592.
- Uzal FA; Plattner BL and Hosletter JM. Alimentary System. In: Jubb Kennedy and Palmer's. *Pathology of Domestic Animals*. Canada: Elsevier, 2016. pp. 167-176.

B6- CARACTERIZACIÓN DEL MATERIAL CASEOSO EN LESIONES DE LAC Y SU CORRELACIÓN CON EL AISLAMIENTO DE *CORYNEBACTERIUM PSEUDOTUBERCULOSIS* EN OVINOS DE SANTA CRUZ

R. Marcellino¹ y J. Santana²

¹Grupo Salud Animal EEA INTA Bariloche. CC: 277 (8400). e-mail: marcellino.romanela@inta.gob.ar ²AER Río Gallegos. EEA INTA Santa Cruz CC: 332 (9400). e-mail: santana.jorge@inta.gob.ar

Introducción

La Linfadenitis Caseosa (LAC), es una enfermedad infectocontagiosa de curso crónico que afecta principalmente a ovinos y caprinos adultos provocando importantes pérdidas económicas. El agente etiológico de la LAC en pequeños rumiantes es *Corynebacterium pseudotuberculosis* biovar *ovis*. La enfermedad se caracteriza por la formación de abscesos caseosos en linfonódulos o ganglios linfáticos superficiales y profundos, y en órganos como pulmones, hígado y riñones. El diagnóstico de la LAC se basa en el aislamiento e identificación, mediante exámenes bacteriológicos, del agente patógeno a partir del material purulento obtenido de los ganglios linfáticos aumentados de tamaño y de los órganos afectados.

En los ovinos el material caseoso va variando de consistencia, aspecto y color según el tiempo de desarrollo de la infección. En las primeras etapas se observa un contenido purulento verde homogéneo y semi fluido. A medida que la infección va progresando el pus adquiere un aspecto más sólido conformado por capas repetidas de tejido fibroso y material caseoso, haciendo que a la observación presente una apariencia de anillos de cebolla que progresivamente va tomando un color más pálido. En algunos casos se observan pequeños nódulos de mineralización. Si bien es posible aislar el agente causal a partir de lesiones con diferentes tiempos de maduración, la ubicación y el número de bacterias viables presentes en los abscesos crónicos puede ser bajo y en ocasiones hasta ser estériles ⁽¹⁾.

El objetivo de este trabajo fue caracterizar el material caseoso presente en abscesos de ganglios linfáticos internos y órganos de ovinos y determinar si existe relación con el aislamiento del agente causal de la LAC, *C. pseudotuberculosis* biovar *ovis*.

Materiales y Métodos

Se procesaron 65 muestras de órganos y ganglios mediastínicos de 46 ovinos (45 adultos y 1 borrego) con sospechas de LAC provenientes de 4 establecimientos ubicados en diferentes áreas agroecológicas de la provincia de Santa Cruz. Cada muestra fue procesada de manera aséptica, evaluando en primera instancia la presencia o no de material caseoso. Posteriormente se caracterizó el material caseoso, según su consistencia (mixta, pastosa líquida, pastosa seca, dura), aspecto (grumoso, homogéneo, laminar) y color (blanco-crema, verde).

Luego se realizó un corte del absceso para exponer el material caseoso y se tomó una muestra del mismo frotando el hisopo por la cara interna del absceso. El hisopo se descargó en placas de Agar Columbia con el agregado de 5% de sangre ovina heparinizada estéril. Las placas se incubaron a 37°C con 10% de CO₂ y se observaron a las 48 hs. Las colonias que resultaron pequeñas (1,5-2,5 mm), circulares, secas, de superficie opaca, color blanco-crema, con una estrecha zona de hemólisis y que al microscopio óptico resultaron bacilos Gram positivos, pleomórficos de extremos ahusados y dispuestos en empalizada se repicaron para obtener cultivos puros. A cada aislamiento se le realizaron las pruebas bioquímicas: catalasa, urea, nitrato, DNasa e inhibición del efecto CAMP con *Staphylococcus aureus*. Los aislamientos que resultaron positivos a las pruebas de catalasa, urea, inhibición del efecto CAMP y negativos a las pruebas de nitrato y DNasa se identificaron como *Corynebacterium pseudotuberculosis* var. *ovis* ⁽²⁾.

Se frotó un hisopo estéril por la cara interna de los abscesos en los cuales se observó líquido transparente sin presencia de material caseoso (éstos podrían tratarse de quistes hidatídicos en diferentes estados de evolución) ⁽³⁾, y se sembró de la manera descripta anteriormente.

Resultados

De las 65 muestras procesadas, 57 correspondieron a abscesos con material caseoso en su interior, 56 de animales adultos y una de borrego. El 70% se encontraron en el pulmón, el 23% en ganglios mediastínicos y el 7% en el hígado. Las características del material caseoso observado se detallan en la Tabla 1. En 56 muestras con material caseoso se logró aislar en pureza y en gran cantidad (>100 colonias) un bacilo Gram+ corineforme identificado por pruebas bioquímicas como *C. pseudotuberculosis* biovar *ovis*. En el absceso restante, con material caseoso duro, se aisló una sola colonia del patógeno y numerosos contaminantes.

Las 8 muestras restantes contenían líquido transparente sin material caseoso. El 87,5% se encontraron en el pulmón y el 12,5% en el hígado. En 5 muestras se aisló *C. pseudotuberculosis* biovar *ovis* en bajo número (≤10 colonias), mientras que las otras 3 resultaron negativas (Tabla 1).

Tabla 1: Clasificación de las muestras procesadas y del material caseoso en abscesos de ganglios linfáticos y órganos

material caseoso	descripción		número de muestras	procesadas/ aislamiento+
Si	Consistencia	mixta ^a	5	57/57
		pastosa líquida	26	
		pastosa seca	10	
		seca	9	
		dura	7	
	Aspecto	grumoso	33	
		homogéneo	22	
		laminar	2	
	Color	blanco-crema	43	
		verde	14	
No	líquido transparente		8	5/8

^amaterial más seco en el interior del absceso y más pastoso en los bordes

Discusión

El aislamiento del agente en gran cantidad en casi la totalidad de las muestras, independientemente de las características del material caseoso, indica que los cambios que se producen en el material caseoso según avanza el tiempo de infección, no afecta marcadamente la cantidad y viabilidad de *C. pseudotuberculosis* biovar *ovis*, con algunas excepciones en materiales caseosos muy calcificados ⁽⁵⁾.

Si bien la LAC se describe generalmente en animales adultos, el hecho de aislar el agente causal a partir del borrego demuestra que también las categorías jóvenes son susceptibles a este patógeno ⁽⁴⁾.

En los casos de aislamiento de *C. pseudotuberculosis* biovar *ovis* de las muestras con líquido y sin material caseoso, se debería seguir trabajando para evaluar si corresponde a otras formas no tan frecuentes de lesiones de LAC o a otro tipo de afecciones colonizadas secundariamente por este patógeno.

Bibliografía

- ¹Baird GJ and Fontaine MC. 2007. *Corynebacterium pseudotuberculosis* and its Role in Ovine Caseous Lymphadenitis J. Comp. Path. 2007 vol.137:179-210.
- ²Guimarães AS, Carmo FB, Pauletti RB, Seyffert N, Ribeiro D, et al. 2011. Caseous Lymphadenitis: Epidemiology, diagnosis, and control. IIOAB J vol 2: 33-43.
- ³Santana J. 2014. Relevamiento de Quistes Hidatídicos en Ovinos. Río Gallegos. Zafra 2013/14. Informe Técnico.
- ⁴Al-Gaabary MH, Osman SA, Oreiby AF. 2009. Caseous lymphadenitis in sheep and goats: clinical, epidemiological and preventive studies. Small Rumin Res vol 87:116-121.
- ⁵Estevao Belchior S, Gallardo A, Abalos A, Diaz Y, Alvarez L., Callejo R, Prieto M, Jodor N., Jensen O. 2007. Diagnosis of caseous lymphadenitis in sheep from Patagonia. Rev Argent Microbiol vol. 39: 44-46.

Financiación: Proyecto INTA PNSA 1115055

B7- DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE *CORYNEBACTERIUM PSEUDOTUBERCULOSIS* A PARTIR DE MATERIAL BIOLÓGICO DE OVINOS DE LA PATAGONIA

R. Marcellino¹, A. Mignaquí² y J. Pappalardo¹

¹Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Estación Experimental Agropecuaria Bariloche, Grupo de Salud Animal, Modesta Victoria 4450, Río Negro, Argentina. e-mail: marcellino.romanela@inta.gob.ar ²Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, CONICET, Estación Experimental Agropecuaria Bariloche, Grupo de Salud Animal, Modesta Victoria 4450, Río Negro, Argentina

Introducción

La linfadenitis caseosa (LAC) es una enfermedad infectocontagiosa causada por *Corynebacterium pseudotuberculosis*. Ésta se caracteriza por la formación de abscesos en linfonódulos o ganglios linfáticos y en órganos como pulmón, hígado y riñón¹. En la Patagonia, es común el hallazgo de animales con linfonódulos y órganos afectados con las consecuentes pérdidas económicas que acarrea la presencia de LAC debido al decomiso de las canales afectadas y a la disminución de la producción^{1,2}.

El diagnóstico de rutina en caso de sospecha de LAC se basa en el aislamiento e identificación del agente patógeno mediante exámenes bacteriológicos a partir del material caseoso de linfonódulos u órganos afectados. Sin embargo, esta metodología lleva tiempo, es costosa, las cepas presentan diferencias en los resultados y en algunas ocasiones pueden obtenerse cultivos de otros microorganismos piogénicos¹. Si bien se han descrito pruebas moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) o PCR múltiple, en algunos casos sólo se ha trabajado a partir de aislamientos del agente o con el material caseoso pero con metodologías de extracción de ADN largas y costosas^{3,4}.

El objetivo de este trabajo fue evaluar una PCR utilizando una técnica de extracción de ADN económica y sencilla para determinar la presencia de *C. pseudotuberculosis* a partir del material caseoso y compararla con la técnica de rutina.

Materiales y Métodos

Se recolectaron 40 muestras de linfonódulos y órganos afectados de 32 ovinos Merino adultos provenientes de una estancia de Río Negro. Las muestras se recolectaron en recipientes estériles y se conservaron a -20 °C hasta su procesamiento. Los abscesos se abrieron y se frotó un hisopo estéril por la cara interna de los mismos que luego se descargó en placas de agar sangre Columbia. Éstas se incubaron a 37 °C con 10% de CO₂ y se observaron a las 48 h. Las colonias que resultaron macroscópicamente compatibles con *C. pseudotuberculosis* y que al microscopio óptico resultaron bacilos gram positivos pleomórficos y dispuestos en empalizada se repicaron para realizar las pruebas bioquímicas correspondientes para identificar a *C. pseudotuberculosis*¹.

Por otro lado, se realizó la extracción de ADN utilizando la resina Chelex (Biorad, Argentina). Con el extremo de un tip estéril se tomó material de los abscesos y se mezcló con 150 µl de la resina, se incubó 20 min a 65 °C, 8 min a 100 °C, se centrifugó 2 min a 10.000 g y se recuperó el sobrenadante. El ADN extraído se utilizó como templado en una PCR utilizando primers previamente descritos para el gen de la toxina PLD (*pld*) producida por *C. pseudotuberculosis*³.

En el caso de abscesos que contenían líquido o resultaron ser ganglios aumentados de tamaño pero sin material caseoso en su interior, se tomaron 100 µl o se realizó un lavado con solución fisiológica estéril respectivamente y se procedió con la bacteriología y la extracción de ADN como se describió anteriormente.

Las reacciones de PCR fueron preparadas utilizando 0.25 µM de cada primer (PLD-F y PLD-R2), 0.75 mM de MgCl₂, 2.5 buffer Taq Pegasus (PB-L, Argentina), 0.5 µM de dNTPs, 0.25 U/µl DNA Taq Pegasus, 1 µl de ADN de cada muestra y agua hasta completar un volumen final de 25 µl. Las condiciones de ciclado fueron las siguientes: incubación a 95 °C 3 min; seguido de 35 ciclos de desnaturalización a 95 °C 1 min., anillado a 58 °C 40 seg, extensión a 72 °C 1 min 30 seg; y un ciclo final de 72 °C 7 min. Los productos de PCR que tuvieron un peso molecular de 203 pb se consideraron como positivos para *C. pseudotuberculosis*³.

Para evaluar la concordancia entre las dos técnicas se calculó el valor Kappa⁵.

Resultados

Se logró aislar *C. pseudotuberculosis* en el 85 % de las muestras. El 15 % de las muestras que resultaron negativas al aislamiento, correspondieron a ganglios aumentados de tamaño u otras lesiones sin presencia de material caseoso. La amplificación del fragmento de 203 pb por PCR, específico de la *pld* de *C. pseudotuberculosis*, se observó en el 80% de las muestras procesadas (Tabla 1).

Cuando se compararon los resultados obtenidos por bacteriología y PCR, 32 muestras resultaron positivas a ambas técnicas (acuerdo positivo 94.12 %) y 6 muestras resultaron negativas (acuerdo negativo 75 %). El valor de Kappa obtenido fue 0.83, resultando las dos técnicas con una buena concordancia.

Ninguna muestra arrojó un resultado negativo a bacteriología y positivo por PCR. Dos muestras resultaron positivas a bacteriología pero negativas por PCR. En estos dos casos se observó en las placas un importante desarrollo de microorganismos contaminantes y pocas colonias de *C. pseudotuberculosis* (<10 colonias). Para evaluar la presencia de inhibidores se realizó la PCR con diluciones de templado, también se realizó la PCR con mayor cantidad de templado pero no fue posible detectar la banda específica.

Tabla 1: Resultados obtenidos por bacteriología y PCR a partir de linfonódulos y órganos con sospecha de LAC

Bacteriología	PCR		Total
	+	-	
+	32	2	34
-	0	6	6
Total	32	8	40

Discusión

Los resultados obtenidos permiten concluir que en el caso de muestras con un diagnóstico de sospecha de LAC, la PCR descrita es confiable y se podría utilizar como una herramienta alternativa al cultivo bacteriológico que es la técnica considerada *gold standard*.

A diferencia de la bacteriología, la PCR permite obtener un resultado en 24 h y al trabajar directamente con el material biológico se elimina el tiempo y materiales que requieren el primer aislamiento del agente.

El hecho de contar con una metodología de extracción de ADN de pocos pasos, que no requiere de solventes tóxicos, hace que la técnica sea rápida, económica, más segura y que no requiera de equipamiento especializado.

Bibliografía

- ¹ Guimarães AS, Carmo FB, Pauletti RB, Seyffert N, Ribeiro D, et al. 2011 IIOAB J 2:33-43
- ² Estevao Belchior S, Gallardo A, Abalos A, Díaz Y, Álvarez L, Callejo R, Prieto M, Jodor N, Jesen O. 2007 Rev Arg Microbiol 39:44-6.
- ³ Pacheco LGG, Pena RR, Castro TLP, Dorella FA, Bahía RC, et al. 2007 J Med Microbiol 56:480-486.
- ⁴ Pavan ME, Robles C, Cairó FM, Marcellino R, Pettinari MJ. 2012 Res Vet Sci. 92(2):202-6.
- ⁵ Thrusfield M. 1995. Veterinary Epidemiology. 2nd ed. Cambridge: Blackwell Science.

Financiación: Proyecto INTA PNSA 1115055

B8- AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE *Staphylococcus pseudintermedius* EN PIODERMIAS CANINAS: IMPORTANCIA DE SU RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANO

N. Fauret ¹, F. Vinocur ¹, P. Manzuc ¹, J. Gardinetti¹, G. Giacoboni¹

¹Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. Correo electrónico del autor: natalifauret@hotmail.com

Introducción

La especie bacteriana *Staphylococcus pseudintermedius* (S.Ps) fue reclasificada recientemente dentro del grupo *S.intermedius* (GSI) y comprende las especies *S.intermedius*/ *S.delphinii*/ *S.pseudintermedius* (1). La nueva nomenclatura permitió asumir que la mayoría de los estafilococos aislados de caninos e identificados como *S.intermedius* son S.Ps. Este microorganismo forma parte de la microbiota de caninos que colonizan piel y mucosas. Actúa como patógeno oportunista y puede provocar infecciones en piel, oído, vías urinarias y hueso. Asimismo, constituye el 90% de los aislamientos de muestras de piel de portadores sanos. Si bien no se lo encuentra normalmente en humanos, en los últimos años se han reportado en personas en estrecho contacto con las mascotas. Identificar fenotípicamente las especies del grupo GSI en el laboratorio es dificultoso por las escasas pruebas bioquímicas que los diferencian, convirtiéndose en un desafío para el microbiólogo clínico (2).

A mediados de la década de los 80, aparecieron las primeras cepas de SPs resistentes a la meticilina (SPMR). Esta resistencia está mediada por el gen *mecA* presente en un elemento genético móvil llamado SSCmec (cassette cromosómico) que le confiere resistencia a todos los antibióticos betalactámicos con excepción de la ceftazolina, una cefalosporina nueva que actúa sobre *S.aureus* resistente a la meticilina (SARM) utilizada en medicina humana

Las pruebas de sensibilidad antimicrobiana pueden predecir fenotípicamente al gen *mecA* y la resistencia a los antibióticos betalactámicos, pero es imprescindible la identificación de especie ya que se utilizan diferentes discos de antimicrobianos y puntos de corte.

Otro factor preocupante es la aparición de cepas de S..Ps multiresistentes, es decir que presentan resistencia a 3 o más familias de antimicrobianos.

Este trabajo tuvo como objetivo aislar e identificar S.Ps a partir de muestras clínicas de piodermias caninas con el fin de evaluar la incidencia de este microorganismo, su resistencia antimicrobiana y concientizar a la comunidad veterinaria sobre la importancia del uso responsable de los antimicrobianos.

Materiales y métodos

Muestras

Se procesaron 45 hisopados de piel proveniente de caninos de diferentes razas y edades con diagnóstico clínico de piodermia en el período febrero – Mayo de 2016

Aislamiento e identificación y sensibilidad antimicrobiana

Los hisopos fueron sembrados en caldo salado (6,5 % Cl Na) para su preenriquecimiento selectivo a 37° C durante 24 hs y luego se sembraron en agar manitol salado. Las colonias sospechosas fueron repicadas en agar tripticasa soya para obtener un cultivo puro. La identificación de especies se realizó por las siguientes pruebas bioquímicas: coagulasa, Voges Proskauer, fermentación de trehalosa, manitol y maltosa, hidrólisis de la arginina y l-pirrolidonilarginilamidasa (PYR).

La sensibilidad antimicrobiana se realizó por el método de difusión en agar según normas Vet-01-A4 del CLSI para animales. Se utilizaron discos de oxacilina 1 µg (OXA), clindamicina 2µg (CLI), eritromicina 15µg (ERI), ciprofloxacina 5µg (CIP), minociclina 30 µg (MIN), rifampicina 5µg (RIF), cloranfenicol 30µg(CMP), y trimetoprima-sulfametoxazol 25 µg (TMS). Se evaluó el fenotipo de resistencia a macrólidos utilizando el D test descripto para *S. aureus*.

Los resultados del método de difusión en agar para OXA, ERI, CLIN, CMP y TMS se interpretaron según el documento Vet-01-S2 del CLSI para medicina veterinaria mientras MIN y RIF con el documento M100-S24 para humanos (no poseen puntos de corte para animales).

Resultados

De las 45 muestras procesadas se aisló S. Ps en 42 (93.3%). Del total de los aislamientos 10 fueron sensibles a todos los antimicrobianos (23,8%). La resistencia a la meticilina se registró en 14 cepas (33.3 %). El D test mostró fenotipo de resistencia constitutiva para los macrólidos. En la Tabla 1 se pueden observar los perfiles de resistencia a los antimicrobianos probados en este estudio.

TABLA 1: Perfiles de resistencia antimicrobiana de *S.pseudintermedius* aislados de piodermias caninas

Nº de antibióticos resistentes	Fenotipo de resistencia	(N ºde cepas)
7	OXA-CLIN-ERI-TMS-CIP-CMP-RIF	(3)
6	OXA-CLIN-ERI-TMS-CIP-CMP	(3)
5	OXA-CLIN-ERI-TMS-CIP	(5)
4	CLIN-ERI-TMS-CIP	(7)
	OXA-CLIN-ERI-TMS	(2)
	OXA-CLIN-ERI-CMP	(1)
3	ERI-TMS-CIP	(1)
	CLIN-ERY-TMS	(1)
2	TMS-CIP	(2)
	ERI-TMS	(1)
	CLIN-ERI	(1)
	TMS-MIN	(1)
1	TMS	(3)
	CIP	(1)
	ERI	(1)

Discusión y conclusiones

En concordancia con la bibliografía mundial, S.Ps tuvo una alta incidencia como agente aislado a partir de piodermias caninas.

La resistencia a la meticilina y como consecuencia a los antibióticos betalactámicos fue más alta que la registrada en trabajos de nuestro país pero más baja que en otros países en los que se realizaron estudios similares. Dentro de la resistencia observada se destacan altos porcentajes a CIP (54,8%), ERI (61,6%), CLIN (57,1%), antimicrobianos utilizados para el tratamiento de piodermias y que llevarían al fracaso terapéutico. La resistencia antimicrobiana es un problema mundial, en el que la medicina veterinaria debe tomar conciencia.

El uso prudente y responsable de antibióticos es una recomendación que la Organización de Sanidad Animal (OIE) está promoviendo para preservar la eficacia de estos compuestos.

Bibliografía

1. Sasaki y col. J.Clin. Microbiol.2007. 45:2770-8
2. Rios y col. Clin.Vet.Peq. Anim.2015 35:149-161
3. OIE www.oie.int

B9- INMUNOREACTIVIDAD DE UN EXTRACTO PROTEICO DE *LEPTOSPIRA* SPP VS PROTEINAS RECOMBINANTES LIPL32 y LIGB25

M. Martínez¹; S. Grune Löffler¹; C. Hartleben²; M. Domínguez¹; G. Romero¹; C. Auter¹; B. Brihuega¹.

¹Instituto de Patobiología. Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias y Agronómicas. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria.

²Laboratorio de Inmunología Aplicada, Núcleo de Biotecnología, Centro de Desarrollo Tecnológico, Universidad Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil.
martinez.mara@inta.gob.ar

Introducción

La leptospirosis es la zoonosis de mayor distribución mundial y es enzoótica en la Argentina. La detección precoz de animales con sintomatología compatible con leptospirosis, brinda un aporte considerable a las medidas de control de la enfermedad. La búsqueda de candidatos antigénicos para inmunodiagnóstico resulta de gran importancia. Nuestro objetivo fue comparar la inmunoreactividad de un extracto proteico de *Leptospira* spp. con las proteínas recombinantes LIPL32 y LigB25.

Materiales y Métodos

Extracto proteico de *Leptospira* spp: Fue preparado un extracto proteico a partir de cultivos de *Leptospira interrogans* serovar Copenhageni cepa M 20 en medio EMJH. El cultivo fue centrifugado y sonificado. La concentración proteica obtenida fue medida mediante el fluorómetro Qbit (Invitrogen).

rLigB25: Se amplificó una región específica del gen que codifica para la adhesina LigB a partir del ADN genómico de *L. interrogans* serovar Pomona cepa Pomona (GenBank: AF534640.1) mediante PCR. Los productos de amplificación fueron clonados con el Kit Champion[™] pET Directional TOPO. Se transformaron *E.coli* BL21 y fueron seleccionadas las colonias con el plásmido recombinante. Fueron incubados en caldo Luria-Bertani (LB). Se indujeron con isopropyl-D-thiogalactopyranoside (IPTG). La proteína expresada se analizó mediante electroforesis en gel de poliacrilamida al 12 % (SDS-PAGE) y cuantificó mediante fluorometría (Qbit). Luego, fue purificada mediante electroelución desde el gel de poliacrilamida y concentrada mediante liofilización.

rLIPL32: fue provisto por el Laboratorio de Inmunología Aplicada, Núcleo de Biotecnología, Centro de Desarrollo Tecnológico, Universidad Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil.

Muestras de suero: Se trabajó con un panel de 10 sueros bovinos obtenidos de establecimientos agropecuarios de la provincia de Buenos Aires. Los mismos ingresaron al servicio de diagnóstico del Laboratorio de Leptospirosis del Instituto de Patobiología, Centro de Investigaciones Veterinarias y Agronómicas, Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Buenos Aires, Argentina.

Técnica de Aglutinación Microscópica (MAT). Las muestras de sueros bovinos fueron evaluadas por MAT utilizando como antígeno una batería de 8 serovares diferentes de *Leptospira* spp. (*Leptospira interrogans* serovar Pomona cepa Pomona, *L. interrogans* serovar Canicola cepa Hond Utrecht IV, *L. borgpetersenii* serovar Castellonis cepa Castellon 3, *L. interrogans* serovar Wolffi cepa 3705, *L. interrogans* serovar Hardjo cepa Hardjoprajitmo, *L. interrogans* serovar Copenhageni cepa M 20; *L. interrogans* serovar Tarassovi cepa Perepelicin y *L. kirschneri* serovar Grippotyphosa cepa Moskva V.).

SDS-PAGE: mediante electroforesis en gel de poliacrilamida al 12 % en condiciones desnaturizantes, se separaron las proteínas presentes en el extracto proteico obtenido y las proteínas recombinantes LIPL32 y LigB25. El gel fue teñido con el colorante azul de coomassie para visualizar las proteínas resueltas en el mismo.

Prueba de Western blot: Las proteínas separadas del extracto proteico, rLIPL32 y rLigB25 en el gel de poliacrilamida al 12%

fueron transferidas a una membrana de nitrocelulosa mediante la técnica de Towbin et al. 1979. Se incubaron con los sueros bovinos positivos y negativos a leptospirosis identificados por la técnica MAT. Luego de lavados, se incubó con un anticuerpo secundario anti-IgG (H+L) de bovino conjugado a la enzima peroxidasa. Finalmente fue revelado con el sustrato 3,3'-diaminobenzidine (DAB).

Resultados

Técnica de Aglutinación Microscópica (MAT): 5 de los sueros resultaron seronegativos a la enfermedad y 5 seroreactivos. Las serovariedades detectadas fueron Pomona (60%) y Wolffi (40%) con títulos > a 1/1600.

En el SDS-PAGE se visualizaron una gran cantidad de bandas en el extracto proteico. En el ensayo de Western blot, las bandas ubicadas entre 20 y 25 Kda, presentaron una importante inmunoreactividad frente a los sueros bovinos positivos a leptospirosis y ninguna reactividad frente a los sueros negativos a la enfermedad. La rLIPL32 presentó una fuerte reactividad frente al suero positivo y ninguna reactividad frente a los sueros negativos según MAT.

La rLigB25 no presentó reactividad frente a ningún suero.

Discusión

Los resultados obtenidos comparan la inmunoreactividad de las proteínas nativas del extracto proteico con las proteínas recombinantes rLIPL32 y rLigB25 analizadas en el presente ensayo. Las proteínas presentes en el extracto proteico mostraron ser buenas candidatas para su uso en técnicas diagnósticas. Similares resultados mostró la rLIPL32. En cambio, la rLigB25 resultó ser mala candidata por no presentar inmunoreactividad frente a sueros positivos a leptospirosis mediante la técnica MAT.

La obtención de proteínas nativas o recombinantes para su aplicación en el diagnóstico de la leptospirosis bovina en Argentina es de suma importancia. Actualmente existe una necesidad de desarrollo de nuevas técnicas para una rápida detección de la enfermedad.

Bibliografía

- Alizadeh, S. A., Abdolahpour, G., Pourmand, M. R., Naserpour, T., Najafipour, R., & Eshraghi, S. S. (2014). Evaluation of New ELISA based on rLsa63 – rLIPL32 antigens for serodiagnosis of Human Leptospirosis. *Iranian Journal of Microbiology*, 6(3), 184–189.
- Shiokawa, K., Gamage, C. D., Koizumi, N., Sakoda, Y., Shimizu, K., Tsuda, Y., Arikawa, J. (2016). Evaluation of truncated LipL32 expressed by *Escherichia coli* and *Pichia pastoris* for serodiagnosis of *Leptospira* infection in rodents. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 78(2), 221–230. <http://doi.org/10.1292/jvms.15-0325>
- Surujballi, O., & Mallory, M. (2004). An indirect enzyme linked immunosorbent assay for the detection of bovine antibodies to multiple *Leptospira* serovars. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 68(1), 1–6.
- Towbin, H., Staehelin, T., Gordon, J., (1979). Electrophoretic transfer of protein from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. *Proc. Nac. Acad. Sci. U.S.A.* 76, 4350-4354

B10- CARACTERIZACION DE UN EXTRACTO PROTEICO DE *LEPTOSPIRA* SPP PARA SU APLICACIÓN EN EL DIAGNOSTICO DE LA LEPTOSPIROSIS BOVINA

M. Martínez; S. Grune Loffler; G. Romero; C. Auteri; L. Samartino; B. Brihuega.

Instituto de Patobiología. Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias y Agronómicas. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. martinez.mara@inta.gov.ar

Introducción

La leptospirosis es una enfermedad infectocontagiosa que produce grandes pérdidas económicas en bovinos. La detección precoz de animales con sintomatología compatible con leptospirosis, brinda un aporte considerable a las medidas de control de la enfermedad. Nuestro objetivo fue obtener y caracterizar un extracto proteico de *Leptospira* spp para su aplicación en el diagnóstico de la leptospirosis en bovinos.

Materiales y Métodos

Preparado proteico de *Leptospira* spp: Fue obtenido a partir de cultivos de *Leptospira interrogans* serovar Copenhageni M 20 en medio EMJH durante 7 días. El mismo fue centrifugado y sonificado. La concentración proteica obtenida fue medida mediante el fluorómetro Qbit (Invitrogen).

Muestras de suero: Se trabajó con un panel de 10 sueros bovinos obtenidos de establecimientos agropecuarios de la provincia de Buenos Aires. Los mismos ingresaron al servicio de diagnóstico del Laboratorio de Leptospirosis del Instituto de Patobiología, Centro de Investigaciones Veterinarias y Agronómicas, Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Buenos Aires, Argentina.

Técnica de Aglutinación Microscópica (MAT): Las muestras de sueros bovinos fueron evaluadas por MAT utilizando como antígeno una batería de 8 serovares diferentes de *Leptospira* spp. (*Leptospira interrogans* serovar Pomona cepa Pomona, *L. interrogans* serovar Canicola cepa Hond Utrecht IV, *L. borgpetersenii* serovar Castellonis cepa Castellon 3, *L. interrogans* serovar Wolffi cepa 3705, *L. interrogans* serovar Hardjo cepa Hardjoprajitmo, *L. interrogans* serovar Copenhageni cepa M 20; *L. interrogans* serovar Tarassovi cepa Perepelcin y *L. kirschneri* serovar Grippotyphosa cepa Moskva V.).

Prueba de ELISA: El extracto proteico obtenido se utilizó como antígeno soluble en un ensayo de ELISA, para determinar reactividad de sueros bovinos positivos y negativos a leptospirosis. Para ello se sensibilizaron placas de poliestireno de fondo plano de 96 pocillos de microtitulación (Nunc™ USA) con concentraciones conocidas de extracto proteico solubilizado. Posteriormente se incubaron con los sueros bovinos positivos y negativos a leptospirosis identificados por la técnica MAT. Luego de lavados, se incubó con un anticuerpo secundario anti-IgG (H+L) de bovino conjugado a la enzima peroxidasa. Finalmente fue revelado con el reactivo 3,3', 5,5'-Tetramethylbenzidine (TMB).

SDS-PAGE: Se separaron las proteínas presentes en el extracto proteico de *Leptospira interrogans* serovar Copenhageni M 20 mediante electroforesis en gel de poliacrilamida al 12 % en condiciones desnaturalizantes. Luego fueron visualizadas tras la coloración de azul de coomassie.

Prueba de Western blot: Las proteínas separadas en el gel de poliacrilamida al 12%, fueron transferidas a una membrana de nitrocelulosa mediante la técnica de Towbin et al. 1979. La membrana, luego se incubó con los sueros bovinos positivos y

negativos a leptospirosis identificados por la técnica MAT. Luego de lavados, se incubó con un anticuerpo secundario

anti-IgG (H+L) de bovino conjugado a la enzima peroxidasa. Finalmente fue revelado con el sustrato 3,3'-diaminobenzidine (DAB).

Resultados

Técnica de Aglutinación Microscópica (MAT): 5 de los sueros resultaron seronegativos a la enfermedad y 5 seroreactivos. Las serovariedades detectadas fueron Pomona (60%) y Wolffi (40%) con títulos > a 1/1600.

Mediante la técnica de ELISA se pudo observar inmunoreactividad en el 100% de los sueros confirmados positivamente por la técnica MAT frente al extracto proteico de *Leptospira interrogans* serovar Copenhageni M 20. Ningún suero negativo a MAT presentó reactividad en el ensayo de ELISA.

En el SDS-PAGE del extracto proteico, fueron visualizadas gran cantidad de bandas. En el ensayo de Western blot, las bandas entre 20 a 25 Kda, presentaron una importante inmunoreactividad frente a todos los sueros bovinos positivos a leptospirosis confirmados por MAT. Los sueros negativos no presentaron reactividad.

Discusión

Los resultados obtenidos comprueban la presencia de proteínas inmunoreactivas en el extracto proteico estudiado. En la prueba de ELISA y en la de Western blot, la fuerte señal obtenida en el 100 % de los sueros positivos utilizados y la ausencia de señal en el 100% de los sueros negativos por MAT usados, demuestra que el extracto proteico de *Leptospira interrogans* serovar Copenhageni M 20 podría ser un buen candidato para su aplicación en el diagnóstico de la leptospirosis bovina.

Bibliografía

McDaniel, C. J., Cardwell, D. M., Moeller, R. B., & Gray, G. C. (2014). Humans and Cattle: A Review of Bovine Zoonoses. *Vector Borne and Zoonotic Diseases*, 14(1), 1–19. <http://doi.org/10.1089/vbz.2012.1164>

Siqueira, G. H., Atzingen, M. V., Alves, I. J., de Moraes, Z. M., Vasconcellos, S. A., & Nascimento, A. L. T. O. (2013). Characterization of Three Novel Adhesins of *Leptospira interrogans*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 89(6), 1103–1116. <http://doi.org/10.4269/ajtmh.13-0205>

Surujballi, O., & Mallory, M. (2004). An indirect enzyme linked immunosorbent assay for the detection of bovine antibodies to multiple *Leptospira* serovars. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 68(1), 1–6.

Towbin, H., Staehelin, T., Gordon, J., (1979). Electrophoretic transfer of protein from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. *Proc. Nac. Acad. Sci. U.S.A.* 76, 4350-4354.

B11- INOCULACIÓN EXPERIMENTAL DE *BRUCELLA SUIIS* BIOTIPO 1 EN

CHAETOPHRACTUS VILLOSUS

M. S. Kin¹, M. Fort², E. B. Casanave³

¹Cátedra de Biología de Cordados, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UNLPam. ²Laboratorio de Salud Animal, INTA, Anguil. La Pampa. ³INBIOSUR (CONICET-UNS) y Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, UNS. Bahía Blanca. kinsusana@yahoo.com.ar

Introducción

La brucelosis es una enfermedad zoonótica que afecta tanto a animales domésticos como silvestres e incluso al hombre. Es causada por bacterias intracelulares facultativas Gram negativas. La sintomatología principal en la mayoría de las especies de animales es el aborto o la expulsión prematura de los fetos. Los animales silvestres al igual que los animales domésticos, entre ellos los cerdos, son reservorios importantes de *Brucellas*, entre ellas *B. suis*. Recientemente *B. suis* fue aislada en perros de caza, los cuales habían estado en contacto con cerdos salvajes (Ramamoorthy et al. 2011). En los seres humanos *B. suis* biovar 1 se considera como fuente importante de infección. En un estudio previo fue posible aislar *B. suis* de peludos (*Chaetophractus villosus*) procedentes de distintos establecimientos agropecuarios de la provincia de La Pampa (Kin et al., 2014). Para conocer más sobre la epidemiología y las implicancias de la *Brucella suis* en *C. villosus* se inocularon experimentalmente animales con la cepa de *B. suis* biotipo 1 aislada previamente.

Materiales y Métodos

Los ejemplares de *C. villosus* utilizados para experimentación se alojaron en recintos ubicados dentro del predio de la Experimental INTA, Anguil, con agua y alimento *ad libitum*. En un hábitaculo se encontraban dos hembras (una de ellas en estado de preñez) y en otro, 3 machos adultos, un macho juvenil y una hembra adulta. Los animales inoculados fueron la hembra preñada y los 3 machos adultos. La cepa utilizada correspondió a *Brucella suis* biotipo 1, la cepa había sido aislada de *C. villosus* (Kin et al., 2014). El procedimiento consistió en inocular por vía oral una suspensión que contenía 1×10^6 UFC (unidades formadoras de colonia), a razón de 0,1 ml por animal. La hembra grávida y un macho recibieron, además, 0,1 ml de la misma suspensión por vía conjuntiva. Un mes antes del inicio del experimento se tomó una muestra de sangre a todos los ejemplares, la cual fue analizada para garantizar la negatividad a *Brucella*. Luego, se tomaron muestras de sangre al inicio del experimento (día 0), y a los días 7, 10, 17, 25, 38 y 55 días pos-inoculación. Las muestras de sangre se obtuvieron por punción de la *rete mirabile* de la cola, posteriormente fueron centrifugadas a 2500 rpm durante 15 minutos, luego se procedió a separar el suero y se lo colocó en tubos Ependorf hasta su procesamiento. Las muestras fueron analizadas utilizando las pruebas de Aglutinación en Placa de Antígeno Tamponado (BPA) y la de Polarización Fluorescente (FPA) para la detección de anticuerpos contra *Brucella*, estableciéndose como valor de corte 82 mP. (Kin et al., datos no publicados). En el día 55 se realizó la eutanasia, sólo de aquellos ejemplares que dieron positivos a *Brucella*. Se tomaron muestras de tejidos de diversos órganos (útero, vagina, glándula bulbo uretral, cabeza del epidídimo, cola del epidídimo, hígado, bazo, pulmón, ganglio mesentérico, ganglio axilar, riñón) y de orina. Las muestras de los distintos órganos extraídos fueron sembradas en medios de agar sangre, agar *Brucella*, agar McConkey y agar *Salmonella-Shigella*, se incubaron en presencia de 10% de CO₂ a 37 °C y se examinaron durante 7 días. Las colonias sospechosas de *Brucella* fueron analizadas utilizando pruebas bioquímicas de oxidasa, catalasa, ureasa, requerimiento de CO₂, producción de H₂S, crecimiento con tionina y fucsina básica a 20 mg/ml (Quinn et al. 2002).

Resultados

Los cuatro individuos adultos de *C. villosus* inoculados con la cepa aislada de *B. suis* biovar 1 se infectaron. La hembra que al momento del desafío se encontraba preñada abortó. Todos los tests serológicos (BPA y FPA) fueron negativos al día 7

pos-inoculación. A los 25 días los animales infectados presentaban títulos superiores a los 100 mP. en FPA y siguieron elevándose hasta el final del experimento. La hembra no inoculada, que compartía el mismo hábitaculo que los machos inoculados, se infectó.

De los 5 animales inoculados fue posible aislar *Brucella* en el 100% de los casos de bazo, hígado y ganglio mesentérico y del útero de ambas hembras positivas, como así también de las tres únicas muestras de orina extraídas. Sólo en 3 animales se pudo aislar *Brucella* de pulmón. Asimismo, se aisló *Brucella* en las dos únicas muestras de ganglio axilar estudiadas. Con respecto a los órganos sexuales masculinos de los tres machos, en dos se aisló de cola de epidídimo y en uno de ellos de la glándula bulbo uretral. También se pudo aislar *Brucella* de la vagina de la hembra que había abortado, 52 días después de haberse producido el aborto.

Discusión

En el presente ensayo se demuestra la posibilidad de infectar *C. villosus* con *Brucella suis*, a través de la vía oral y conjuntiva, como así también la transmisión de la enfermedad en una hembra no inoculada que compartía el mismo hábitaculo con tres machos inoculados.

También fue posible demostrar que una hembra preñada que fuera inoculada por vía oral y conjuntiva con *Brucella* abortó al tercer día. Si bien es probable que el aborto no fuera debido a la colonización e infección por *Brucella*, sino a alguna reacción inmunológica producida por la alta carga de brucelas presente en el inóculo, fue posible demostrar posteriormente, en este animal, la colonización de la bacteria en los diferentes tejidos, inclusive en útero y vagina.

El aislamiento de la bacteria de orina en *C. villosus*, sugiere, a su vez, la posibilidad de la transmisión horizontal entre ellos, como así también a otros herbívoros, carnívoros y a humanos como se ha propuesto para otras especies (Meng et al., 2009). El hombre podría contagiarse también por la caza y manipulación de este animal para consumo, lo cual es muy común en muchas regiones del país. Mayores estudios serán necesarios para cuantificar la importancia y el rol que tiene *C. villosus* en la epidemiología de *Brucella suis*.

Bibliografía

- Kin MS.; Fort M.; T. de Echaide S.; Casanave EB. 2014. *Brucella suis* in armadillos (*Chaetophractus villosus*) from La Pampa, Argentina Vet. Microbiol. 170, 442-445.
- Meng XJ.; Lindsay DS.; Sriranganathan N. 2009. Wild boars as sources for infectious diseases in livestock and humans. Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences 364 (September (1530)), 2697-2707, doi:10.1098/rstb.2009.0086
- Quinn PJ.; Carter ME.; Markey BK.; Carter GR. 2002. Clinical Veterinary Microbiology. (ed.) Mosby International Limited. Pg. 648.
- Ramamoorthy S.; Woldemeskel M.; Ligett A.; Snider R.; Cobb R.; Rajeev S. 2011. *Brucella suis* infection in dogs, Georgia, USA. Emerg. Infect. Dis. 17(12):2386-2387.

B12- DIAGNOSTICO BACTERIOLOGICO DE TUBERCULOSIS BOVINA EN BOVINOS REACTORES A LA PRUEBA INTRADERMICA

S. Garbaccio¹, F. Delgado¹, M. Zumarraga², P. Huertas¹, C. Garro¹.

¹Instituto de Patobiología, CICVyA, INTA- Hurlingham, Bs. As; ²Instituto de Biotecnología, CICVyA, INTA- Castelar, Bs.As.
garbaccio.sergio@inta.gob.ar

Introducción

La tuberculosis bovina (TBB) cuyo agente etiológico es *Mycobacterium bovis*, es una enfermedad infecciosa de carácter zoonótico, que ocasiona serios problemas productivos, económicos y en la salud pública. Se considera que 500 millones de bovinos estarían infectados con *Mycobacterium bovis* en el mundo, ocasionando una pérdida económica estimada en U\$S 3 billones. En este sentido, un estudio realizado en Irlanda¹ adjudica un 10% de disminución en la producción anual de leche en bovinos positivos a la intradermorreacción, a diferencia de aquellos no infectados. El programa de control y erradicación de TBB en Argentina se basa en la identificación y eliminación de animales infectados mediante la aplicación intradérmica de la prueba anocaual (PAC)². Además, se establece el monitoreo y la vigilancia epidemiológica en frigoríficos donde los animales son inspeccionados con el fin de hallar lesiones compatibles con TBB (LCT). Complementariamente, se puede llevar adelante estudios bacteriológicos a partir de diversas muestras biológicas tales como secreción nasal, leche y tejidos.

El objetivo de este estudio fue evaluar la presencia de *M. bovis* en muestras de secreción nasal, leche y tejidos colectados de bovinos positivos a la PAC.

Materiales y métodos

Se seleccionaron 572 bovinos de raza Holando-Argentino provenientes de 24 rodeos lecheros de las provincias de Córdoba, Santa Fe y Buenos Aires. Estos rodeos presentaban, al momento del estudio, una prevalencia entre 0,5 y 4%. Todos los bovinos de este estudio resultaron positivos a la PAC, llevada a cabo según la normativa vigente¹. Las muestras biológicas recolectadas fueron las siguientes: secreción nasal (a través de hisopados nasales), leche (100 mL de cada cuarto mamario) y tejidos fueron obtenidos a partir de necropsias y muestreos realizados en frigorífico (ganglios linfáticos (GL): retrofaríngeos, submandibulares, traqueobronquiales, mediastínicos y hepáticos; pulmón e hígado). Luego refrigerados y homogeneizados mecánicamente durante 3 min. (Masticator Basic IUL Instruments modelo N° 470); para luego continuar con la decontaminación (método de Petroff) y siembra en medios de Stonebrink y Löwestein Jensen. Los desarrollos micobacterianos fueron sometidos a la tinción ácido alcohol resistente de Ziehl Neelsen. Posteriormente fueron identificados por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR)³, utilizando como blanco la secuencia de inserción (IS) 6110 (propia del complejo *Mycobacterium tuberculosis*). Aquellos positivos fueron genotipificados por Spoligotyping⁴.

Resultados

Se aisló e identificó *M. bovis* del 12,4% (71/572) de los bovinos examinados. Los aislamientos provinieron de muestras de tejidos 36,5% (38/104), seguido de leche 11% (23/214) y secreciones nasales 4% (10/254). En el 56,3% de los tejidos colectados se observaron lesiones compatibles con TB, aislándose *M. bovis* en el 61,2% de los mismos.

Discusión

Los resultados presentados en este trabajo indican la importancia relativa de las distintas muestras analizadas para el diagnóstico bacteriológico de TBB. El aislamiento de *M. bovis* a partir de muestras de leche y secreción nasal tendrían limitada utilidad diagnóstica, aunque resultan de fácil obtención in vivo. El análisis bacteriológico de tejidos (*post mortem*) sería de mayor relevancia diagnóstica y su uso permitiría comprender eventos sanitarios que requieran de un análisis detallado, como sería el caso de un predio libre de TBB donde se presentan nuevos reactores a la PAC o aquellos con un bajo número de reactores, sospechados de posibles resultados falsos positivos a la PAC. Los resultados negativos a la bacteriología, en las distintas muestras analizadas podrían relacionarse a factores tales como la eliminación intermitente de micobacterias (secreción nasal y leche), a la presencia de micobacterias no viables en el material colectado o que la metodología de decontaminación utilizada afecte la sobrevivencia de las micobacterias. Otro factor a considerar es la posible presencia de bovinos falso-positivos a la PAC dentro del grupo en estudio. De esta manera, el cultivo seguido de la tipificación molecular permite avanzar en la resolución de situaciones específicas, brindando además información complementaria acerca de las cepas circulantes en un predio y/o región y su potencial uso desde el punto de vista epidemiológico.

Bibliografía

- 1- Boland F, Kelly GE, Good M, More SJ. Bovine tuberculosis and milk production in infected dairy herds in Ireland. Preventive Veterinary Medicine. 2010; 93:153-161.
- 2- Secretaría de Agricultura, Dirección de Sanidad Animal, Argentina, "Plan Nacional de Control y Erradicación de la Tuberculosis Bovina," Resolución N° 128/2012 SENASA/SAGPyA, 2012.
- 3- "Use of touch-down polymerase chain reaction to enhance the sensitivity of *Mycobacterium bovis* detection. Zumarraga M.J, Meikle V, Bernardelli A, Abdala A, Tarabla H, Romano MI, Cataldi A.J. Vet. Diagn. Invest. 17: 232-238.
- 4- Simultaneous detection and strain differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* for diagnosis and epidemiology. Kamerbeek L, Schouls A, Kolk M, van Agterveld D, van Soolingen S, Kuijper A, Bunschoten H, Molhuizen R, Shaw M, Goyal J, van Embden. J. Clin. Microbiol. 1997; 35:907-914.

B13- UN CASO DE EHRLICHIOSIS EN UN PERRO DE LA PROVINCIA DE SAN LUIS

Aubert S. R.¹, Rossanigo C. E.², Crosa P.¹, Serrano D.¹, De Salvo M. N.³ y Cicuttin, G. L.³

1. Actividad Privada Villa Mercedes (San Luis). 2. Fac. Veterinaria, UCCuyo (San Luis). 3. Laboratorio de Zoonosis bacterianas y Parasitarias transmitidas por vectores del Instituto de Zoonosis Luis Pasteur. E-mail: rossanigo.carlos@inta.gob.ar

Introducción: Ehrlichiosis y anaplasmosis son enfermedades causadas por bacterias intracelulares obligados de los géneros *Ehrlichia* y *Anaplasma*. Ambos géneros son bacterias Gram negativas pequeñas, pleomórficas, pertenecientes a la familia Anaplasmataceae (orden Rickettsiales). Estas bacterias son principalmente transmitidas por garrapatas. Un número limitado de estos organismos también se han identificado en las personas provocando importantes enfermedades emergentes. En los caninos, *Ehrlichia canis* y *Anaplasma platys*, causan la ehrlichiosis monocítica canina y trombocitopenia cíclica infecciosa canina, respectivamente. Estas enfermedades pueden ser transmitidas mediante transfusiones de sangre, pero la vía de transmisión más frecuente es la picadura de la garrapata parda común del perro, *Rhipicephalus sanguineus*. Estas dos infecciones, más comunes en las regiones tropicales y subtropicales fueron reportadas por primera vez en caninos de nuestro país en el año 2013. *E. canis* no está considerado agente zoonótico, mientras que *A. platys* ha sido detectado microscópicamente en plaquetas de pacientes inmunosuprimidos (pero sin confirmación por métodos moleculares) de Venezuela, así como en un veterinario con síndrome febril. Además, en humanos ha sido reportado en la provincia de Jujuy casos sospechosos de ehrlichiosis monocítica humana producida por *Ehrlichia chaffeensis* (o un agente antigénicamente similar). Esta comunicación tiene el propósito de aportar las observaciones realizadas y la experiencia terapéutica de un caso clínico de esta enfermedad en un canino de la ciudad de Villa Mercedes (san Luis), Argentina.

Materiales y métodos: En el otoño del 2015 se presentó a la consulta un canino macho de raza Boyero de Berna de 5 años de edad, alimentado con alimento balanceado y que convivía con otro perro de la misma raza. Al momento de presentarse a la consulta contaba con plan sanitario completo. El cuadro comenzó con hipertermia de 42 °C, anorexia, vómitos, palidez de mucosas, decaimiento con problemas para incorporarse, depresión, adelgazamiento sin signos neurológicos centrales o periféricos. A la palpación se detectó una importante esplenomegalia y adenopatía generalizada, y a la observación se detectó la presencia de una garrapata que fue identificada taxonómicamente siguiendo las claves descriptas por Boero (1957). Se realizaron análisis de laboratorio que incluyeron perfiles de análisis clínicos de sangre (hemograma completo y química sanguínea), análisis directo de materia fecal y análisis completo de orina. También se realizó la observación directa de extendidos sanguíneos, coloreados con May-Grunwald-Giemsa. Por otra parte, mediante PCR se analizaron la garrapata y los extendidos sanguíneos del período agudo de la enfermedad. El ADN de las muestras fue extraído mediante High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche, Alemania), según indicaciones del fabricante. Se realizó una PCR para la Flia. Anaplasmataceae (géneros *Ehrlichia* y *Anaplasma*) que amplifica un fragmento de ARNr 16S de 345 pares de base (pb). Se instauró tratamiento con antibióticos (doxiciclina, y penicilinas), observándose una mejoría importante por lo que se le dejó ir a su casa con tratamiento ambulatorio. La evolución continuó durante dos meses con períodos de recaídas en los cuales era necesaria la internación a períodos de buen estado con altas, hasta que complicaciones de una vasculitis en las porciones terminales de su cuerpo, edema en los miembros, pérdida ponderal de peso y gran anemia produjeron la muerte

Resultados: El hemograma reveló una gran anemia (3.550.000/μl) con una leucocitosis de 91.800 glóbulos blancos, con desviación a la izquierda y una trombocitopenia importante (plaquetas por debajo de 30.000/mm³). El análisis de orina mostró una proteinuria de 4 cruces lo que daba una idea del

compromiso renal. La garrapata hallada en el animal fue clasificada como *Amblyomma tigrinum*. La observación directa de extendidos sanguíneos, coloreados con May-Grunwald-Giemsa reveló la presencia de inclusiones intracitoplasmáticas (mórulas) en un pequeño porcentaje de los leucocitos. Las mórulas aparecen como punteado oscuro azul o púrpura inclusiones, y se encuentran principalmente en monocitos o neutrófilos, aunque pueden ser detectados ocasionalmente en otros tipos de células. Estas estructuras desaparecieron de la sangre dentro de 24-72 horas después de comenzar la terapia con antibiótico, lográndose reducir a 33000 los glóbulos blancos. La PCR para los géneros *Ehrlichia/Anaplasma* (fragmento 16s ARNr) fue débilmente positiva en los extendidos sanguíneos y negativa en la garrapata analizada. El débil producto de la PCR no pudo ser secuenciado para confirmar qué especie patógena estaba implicada.

Discusión y Conclusión: La enfermedad fue diagnosticada por la observación del cuadro clínico-hematológico, la observación intracitoplasmática de cuerpos de inclusión o mórulas compatibles con ehrlichias y por la PCR positiva. Lamentablemente los ADNs obtenidos de muestras no adecuadas (extendidos) suelen ser escasos y de mala calidad, por eso no se pudo lograr la secuenciación para confirmar la especie patógena implicada. En nuestro país este grupo de agentes recién se están comenzando a estudiar mediante métodos moleculares específicos. En San Luis no se encuentran antecedentes sobre la detección de ehrlichias o anaplasmas en mamíferos o garrapatas. Actualmente está confirmada molecularmente la presencia de *E. canis* causando enfermedad clínica en caninos del Área Metropolitana de Buenos Aires y ha sido sospechada mediante métodos serológicos en caninos de la ciudad de Mendoza. Respecto al vector, *R. sanguineus* está conformado por dos linajes que presentan distinta competencia vectorial. El linaje tropical es el implicado en la transmisión de *E. canis* y se encuentra distribuido desde México hasta el norte de Argentina. Coincidentemente, *E. canis* sólo ha sido detectada en *R. sanguineus* linaje tropical en el norte de nuestro país. En este sentido, la ocurrencia de casos clínicos caninos fuera del área de distribución de *R. sanguineus* linaje tropical plantea la cuestión del mecanismo de transmisión que está ocurriendo en estas áreas del país.

Bibliografía:

1. Boero, J. (1957). Las garrapatas de la República Argentina (Acarina – Ixodoidea). Buenos Aires: Ed. UBA, 1957, p. 113.
2. Cicuttin, G. L.; De Salvo, M. N.; Gury Dohmen, F. E. (2016). Molecular characterization of *Ehrlichia canis* infecting dogs, Buenos Aires. Ticks and Tick-borne Diseases; En prensa.
3. Cicuttin, G. L.; Tarragona, E. L.; De Salvo, M. N.; Mangold, A. J.; Santiago Nava, S. (2015). Infection with *Ehrlichia canis* and *Anaplasma platys* (Rickettsiales: Anaplasmataceae) in two lineages of *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (Acari: Ixodidae) from Argentina. Ticks and Tick-borne Diseases; 6: 724–729.
4. Eiras D.F.; Craviotto M.B.; Vezzani D.; Eyal O.; Baneth G. (2013). First description of natural *Ehrlichia canis* and *Anaplasma platys* infections in dogs from Argentina. Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis., 36(2):169-173.
5. Parola, P.; Roux, V.; Camicas, J. L.; Baradji, I.; Brouqui P.; Raoult, D. (2000). Detection of ehrlichiae in African ticks by polymerase chain reaction. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 94: 707-708. Disponible en http://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins_textes/pleins_textes_7/b_fdi_57-58/010024088.pdf

B14- EFECTO DE FACTORES PREDISPONENTES SOBRE LA TRANSMISION Y PERSISTENCIA DE *E. coli* O157:H7 EN BOVINOS (B14)

L. C. Rhades¹; F. J. Babinec^{1,2}; A. Pordomingo¹; A. Cataldi³; A. M. Larzabal³; V. N. Baldone¹; N. Amigo³; L. Urquiza¹; L. Gelid¹; P. J. Delicia⁴; M. C. Fort¹

1) EEA INTA Anguil 2) Facultad de Agronomía UNL.Pam 3) Instituto de Biotecnología INTA Castelar 4) UTN Facultad Regional Rosario rhades.luis@inta.gob.ar

INTRODUCCIÓN

La *E. coli* O157:H7 es un patógeno causante de enfermedad transmisible por alimentos (ETA). Una de ellas, el síndrome urémico hemolítico (SUH), es la más grave, por la producción de toxina Shiga (Stx) en el intestino, actuando sobre los riñones, cerebro y otros órganos en el hombre. El SUH afecta en forma endémica en la Argentina a niños de entre 6 meses a 6 años de edad.

Se demostró que el 20% de los animales de los rodeos estaban infectados con *E. coli* O157:H7, lo que tiene implicancia en la dinámica de la transmisión entre los animales y el riesgo de infección en el ser humano; situación que adquiere relevancia epidemiológica, por mantener a la bacteria en el ambiente y por favorecer su diseminación.

El conocimiento de los factores que predisponen la transmisión y la persistencia de *E. coli* en bovinos es importante para proyectar medidas que permitan disminuir su prevalencia y minimizar el riesgo para la salud pública.

MATERIALES Y METODOS

Se utilizaron 120 terneros machos, recién destetados, de 4 y 6 meses de edad y entre 87 kg y 224 kg de peso, encerrados en 36 corrales, albergando entre 3 a 4 terneros por redil, distribuidos por peso, en dos bloques: livianos y pesados.

De marzo a junio de 2014, recibieron una dieta con 3 niveles de PB (proteína bruta) (9%-13%-18%), de julio a noviembre cambio de dieta, con salida al campo, con 9% PB y retorno al encierro de diciembre a abril, con dieta de terminación con 9,5%-13% PB.

Durante el engorde fueron sometidos a diferentes medidas de manejo, como inmunizaciones contra fiebre aftosa y castración. Se registraron las temperaturas máximas, mínimas y promedio, 15 días previos al HMRA (hisopado mucosa recto anal), para analizar su incidencia en la excreción de STEC. También se tomaron los registros de las lluvias acumuladas, 15 días previos a los HMRA.

Desde el 19 de marzo de 2014 hasta el 24 de abril de 2015, se tomaron muestras mensuales, mediante HMRA a todos los animales.

Los HMRA se incuban en caldo tripticasa soja (TSB), suplementado con vancomicina, cefixima y telurito de potasio, para la posterior separación inmunomagnética (SIM) de las cepas de *E. coli*. Luego de la SIM, se sembró la suspensión en Agar Mac Conkey Sorbitol + cefixima telurito + suplemento MUG (SMAC_{CT}) para seleccionar las colonias de *E. coli* O157:H7 que no fermentan el sorbitol y el MUG.

Para confirmar el aislamiento de las colonias que no fermentaron al sorbitol y no metabolizaron al MUG, se las somete a la prueba de aglutinación antígeno-anticuerpo O157:H7 (Latex Test).

Las cepas de *E. coli* O157:H7 identificadas, se las replicó en medio Agar Mac Conkey y al finalizar la incubación, se acondicionaron para su almacenamiento y conservación a -74°C, hasta la posterior extracción de ADN, para la caracterización genética de las cepas.

Se utilizó la reacción de PCR Multiplex para detectar los genes de la región constante de Intimina (**eae**), de las toxinas Shiga 1 y 2 (*stx1* y *stx2*), y del responsable de la síntesis del antígeno O (*rfbO*₁₅₇).

La relación entre la portación de los genes de Stx1, Stx2 y Stx1y2 con la temperatura máxima, mínima y las precipitaciones se analizó mediante una regresión Poisson.

RESULTADOS

De acuerdo al nivel de PB en cada etapa de engorde, en la recría se observó un elevado número de animales pesados excretando STEC. Durante el pastoreo y la terminación no hubo diferencia en la excreción de STEC entre livianos y pesados.

Respecto a la portación de los genes Stx de acuerdo al nivel de PB en la dieta, en la etapa de recría, en los animales con la dieta con 9% se detectó una portación de genes Stx1y2 más elevados que los que consumen la dieta con 13%. En los terneros con 18% de PB no se detectaron genes Stx1y2.

Durante el pastoreo a campo se destacó una elevada presencia de genes de Stx1y2, que disminuyen cuando los animales reingresan a los corrales. En la etapa de terminación la presencia de genes Stx1y2 ES baja.

De marzo a julio de 2014, con la disminución de las temperaturas, disminuye la excreción de STEC. De julio a noviembre, a medida que aumentan las temperaturas, se incrementa la excreción de STEC. Sin embargo, durante los meses estivales, con picos de temperatura superando los 30°C, se registró una baja en la excreción de STEC. A partir de marzo de 2015, con el descenso de las temperaturas, nuevamente volvió a registrarse un aumento de la excreción de STEC.

Con respecto a la presencia de genes de Stx, se observó que de marzo a mayo, a medida que bajan las temperaturas, disminuye la presencia de Stx1 y de junio, hasta finalizar en ensayo, no se la vuelve a identificar. De marzo a julio, se registró una disminución en la portación de genes de Stx2 y Stx1y2. Desde julio, con el aumento de las temperaturas se registró una elevada presencia de Stx1y2, que se mantiene hasta noviembre. La portación de genes de Stx2 también aumenta levemente y se mantiene.

Desde diciembre a marzo, con temperaturas altas, disminuyó la portación de genes Stx1y2, volviéndose a elevar en abril. Durante todo el ensayo, la presencia de genes Stx2 fue constante.

La disminución estacional de las lluvias de marzo a agosto, se correlacionó con una menor excreción de STEC y presencia de los genes Stx1, Stx2 y Stx1y2. A partir de setiembre con el aumento de las lluvias se detectó un aumento en la excreción de STEC, con una moderada presencia de Stx2 y un significativo aumento de la presencia de genes de Stx1y2. Desde diciembre hasta abril de 2015, con un registro menor de lluvias, se observó una disminución de la presencia de genes de Stx1y2 y un registro moderado de Stx2.

CONCLUSIONES

Estadísticamente no se apreciaron diferencias significativas en la excreción de STEC, ni en la portación de genes de Stx, entre los distintos niveles de proteínas de la dieta.

La portación de genes para Stx1 y Stx1y2 se vio afectada significativamente por el aumento de las temperaturas máximas (p=0,05), mínimas (p=0,01) y las precipitaciones (p=0,06) y solamente el incremento de las precipitaciones (p=0,01) influyó significativamente sobre la portación del gen para Stx2 y Stx1y2.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Etcheverría, A.; Arroyo, G.; Parma, A.; Padola, N. L. Síndrome urémico hemolítico. El rol del bovino como reservorio de *Escherichia coli* productores de verotoxinas (Vtec); Arch Latin Nefr Ped 2013; 13 (1) pp 1 – 11
- 2.- Vilte, D. A.; Larzabal, M.; Cataldi, A. A.; Merado, E. C.; Bovine colostrum contains immunoglobulin g antibodies against Intimin, espA, and espB and inhibits hemolytic activity Mediated by the type three secretion system of *Attaching and effacing escherichia coli*. Clinical And Vaccine Immunology p. 1208–1213 Aug. 2008

B15- PATOGENIA Y EPIDEMIOLOGIA DE UN RODEO BOVINO INFECTADO NATURALMENTE CON *CAMPYLOBACTER FETUS VENEREALIS INTERMEDIUS*

VN Baldone¹, MC Fort¹, HA Romero¹, LF Urquiza¹, L. van der Graaf – van Bloois², J Wagenaar², PA Chacana³ y HR Terzolo⁴

¹INTA – EEA Anguil, ruta 5 km 580, CP 6326 Anguil La Pampa, Argentina

²Utrecht University, The Netherlands ³INTA Nicolas Repetto y de los Reseros s/n. 1686 Hurlingham Buenos Aires, Argentina

⁴ Investigador retirado, INTA, 7620 Balcarce, Argentina Mail: baldone.valeria@inta.gob.ar

Introducción

La Campylobacteriosis genital bovina es una enfermedad que afecta la reproducción en rodeos de numerosos países. *Campylobacter fetus* causa muerte del embrión, abortos y reducción de la fertilidad. Existen dos subespecies conocidas, *C. fetus* subsp. *fetus* (Cff) que reside en el tracto intestinal del bovino y puede ocasionalmente encontrarse en la cavidad prepucial del toro por contaminación fecal y *C. fetus* subsp. *veneraelis* (Cfv), con tropismo genital exclusivo y que solo se transmite por vía venérea (Campero y col, 1987). Además existe una variedad tolerante a la glicina denominada *C. fetus* subsp. *veneraelis* biovar. *intermedius*, (Cfvi) sobre la cual no se dispone de mucha información respecto a su patogenia y epidemiología. Siendo que la mayoría de las cepas aisladas en nuestro país corresponden a este biovar, el objetivo de este trabajo fue evaluar capacidad infectiva y performance reproductiva de vacas y vaquillonas sometidas a servicio con toros infectados naturalmente con *Campylobacter fetus veneraelis Intermedius*

Materiales y métodos

Para la ejecución de este trabajo se utilizó un lote de 15 vaquillonas de primer servicio de entre 300-350 kg, 3 vacas y 2 toros infectados naturalmente con Cfvi. La caracterización de la cepa se realizó mediante bioquímica, PCR y AFLP realizadas según protocolos diseñados en el Animal Sciences Group, Division of Infectious Diseases and OIE Reference Laboratory for Campylobacteriosis, Lelystad, The Netherlands. Previo al inicio del ensayo se obtuvieron muestras de moco cérvico vaginal (MCV) de todas las hembras para constatar la negatividad a Cfvi, posteriormente fueron mantenidas con los dos toros de raza Aberdeen Angus en pastoreo extensivo en la EEA INTA Anguil, La Pampa, desde abril hasta agosto del 2013 (4 meses). La toma de muestras de prepucio y de MCV, así como el tacto rectal para determinar preñez se realizaron los días 0, 5, 15, 22, 29, 36, 43, 50, 57, 64, 71, 87, 102 y 117, tomando como día 0 al 1° día de contacto entre hembras y machos. Las muestras de prepucio y de MCV obtenidas se colocaron: una parte en un tubo con 5 ml de solución salina bufferada (PBS) con formol al 1% para Inmunofluorescencia Directa (IF) (Terzolo y col, 1992), y la otra en un tubo con 5 ml con medio de transporte y enriquecimiento de Thomann (TTE) (Harwood y col, 2009). Las muestras de TTE se incubaron en estufa a 37°C durante 2 a 3 días para luego realizar el cultivo en placas de agar base sangre con 6% de sangre equina y agar Skirrow. Las placas fueron incubadas en jarras (Oxoid® HP-11) con microaerofilia usando una atmósfera de 5% de CO₂, 5% de O₂ y 90% de N₂, a 37°C durante 3 a 4 días. Además, se extrajo al segundo día una muestra del medio TTE para realizar también IF. A las cepas aisladas se las caracterizó molecularmente mediante las técnicas de PCR y AFLP.

Resultados

Los 2 toros fueron positivos a las tres técnicas (IF en PBS, IF en TTE y cultivo en placa) durante todo el tiempo de duración del ensayo. 9/15 (60%) vaquillonas y 2/3 (66%) vacas fueron positivas a alguna técnica en algunos de los diferentes muestreos. 6/9 (66%) vaquillonas fueron positivas a todas las

técnicas en diferentes días de muestreo del ensayo. En cuanto a las que no fue posible realizar aislamientos: 1/9 (11%) vaquillona y 2/2 (100%) vacas fueron solo una vez positivas en el día 71 mediante IF en TTE y 1/9 (11%) fue positiva a dos de las técnicas (IF en PBS y en TTE). En total se aislaron por cultivo 15 cepas de 7 vaquillonas, 4 al día 15, 1 al día 22, 5 al día 29, 2 al día 43, 1 al día 50, 1 al día 57 y 1 al día 87. De las 7 vaquillonas positivas a Cfvi, 2 registraron 3 aislamientos, 4 con 2 aislamientos cada una y 1 vaquillona con 1 solo aislamiento. Todas las cepas aisladas fueron identificadas por PCR y AFLP como Cfvi.

8 de las vaquillonas quedaron preñadas, habiendo sido 6 de las mismas positivas a Cfvi, del total 4 vaquillonas registraron abortos al final del ensayo (4 meses) correspondiendo 3 al grupo de las positivas a Cfvi y una al grupo de las negativas, lográndose diagnosticar Cfvi en las pertenecientes al grupo de las positivas. El resto de los animales 4/15 (26.6%) vaquillonas y 3/3 (100%) vacas concluyeron la preñez. Además una de las vaquillonas no preñadas presentó endometritis.

Discusión

En los toros fue posible diagnosticar Cfvi en casi todos los muestreos realizados a pesar de permanecer en servicio durante el transcurso del ensayo. Por el contrario en las vaquillonas el diagnóstico fue más errático, identificándose Cfvi en solo el 60% de las vaquillonas presentes en el ensayo. Probablemente esto se deba al tipo de muestra y/o al momento del estro en el que se encontraban las hembras cuando se realizaba el muestreo. En estos casos podría suceder que el MCV dependiendo del ciclo pueda influir sobre la cantidad de bacteria presente y su posterior crecimiento en placas de Agar sangre. También es importante señalar el impacto que tuvo la enfermedad en vaquillonas siendo que solo el 53% logra la preñez, y el 26% lleva la preñez a término. Por el contrario si bien fueron escasas las vacas incluidas en el estudio, podemos decir que a pesar de tener un alto grado de infección (66%), las tres quedaron preñadas y parieron normalmente. Esto demuestra la mayor resistencia que presentarían las hembras adultas con respecto a las vaquillonas de primer servicio. Teniendo en cuenta la escasez de estudios existentes tendientes a evaluar patogenia y epidemiología de las distintas subespecies de *Campylobacter fetus* en condiciones naturales, el presente ensayo aporta información valiosa, sin embargo serían necesarios mayores estudios para cuantificar el impacto producido tanto por los dos subtipos de *Campylobacter fetus*, como por Cfvi en condiciones naturales.

Bibliografía

-Campero C, Ballabene N, Cipolla A, Zamora A.1987. Dual infection in bulls with campylobacteriosis and trichomoniasis: treatment with dimetridazole chlorhydrate. *Aust Vet J* 64: 320-321
-Harwood L, Thomann A, Brodard I, Makaya P y Perreten V.2009. *Campylobacter fetus* subespecie *veneraelis* transport medium for enrichment and PCR. *Veterinary Record*. 165, 507-508
-Terzolo, H, Argento, E., Catena, M, Cipolla, A, Martinez, A., Tejada, G., Villa, C., Bentancor, L., Campero, C, Cordeviola, J. y Pasini, M. 1992. Procedimientos de laboratorio para el diagnóstico de la Campylobacteriosis y tricomoniasis genital bovina. INTA. EEA Balcarce

B16- RESISTENCIA ANTIBIÓTICA EN AISLAMIENTOS DE *STAPHYLOCOCCUS* SP. PROVENIENTES DE CANINOS Y FELINOS DURANTE 2014-2016

G Retamar¹, N Guida¹, M Mesplet¹

¹Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Enfermedades Infecciosas.
mmesplet@fvvet.uba.ar

Introducción

Las bacterias del género *Staphylococcus* son microorganismos residentes de las mucosas y piel de los animales y el hombre. Sin embargo, algunas especies pueden actuar como patógenos oportunistas causando serias enfermedades cutáneas, en tejidos blandos o cavidades.

La resistencia a antibióticos por parte de los microorganismos patógenos es una creciente preocupación a nivel mundial. Durante las últimas décadas el uso masivo de agentes antimicrobianos en salud humana y en sanidad animal, ha generado una aceleración de la aparición de resistencias. Dado el estrecho vínculo que existe entre las personas y sus mascotas, estas podrían actuar como reservorios de microorganismos zoonóticos resistentes a antimicrobianos.

Este trabajo tiene como objetivo determinar el perfil de resistencia antibiótica de cepas de *Staphylococcus* sp. provenientes de caninos y felinos aisladas en el Laboratorio Escuela de la Cátedra de Enfermedades Infecciosas (LEEI) durante 2014-2016.

Materiales y Métodos

Se trabajó con un total de 80 cepas de *Staphylococcus* sp., 72 provenientes de muestras de caninos y 8 de felinos, aislados durante el período comprendido entre enero de 2014 a marzo de 2016 en el LEEI.

Los aislamientos clínicos de *Staphylococcus* sp provinieron de 46 muestras de piel (57,5%), 15 de secreciones de oído (18,8%), 7 del tracto urinario (8,8%), 5 del aparato respiratorio, 2 de origen óseo (2,5%) y 5 fueron clasificados como otros (6,3%) (Fig. 1).

Las muestras fueron sembradas en agar triptena soya por 24 hs a 37°C y fueron identificadas mediante el esquema propuesto por Cowan (2006), brevemente, se identificaron como *Staphylococcus* sp aquellas cepas con las siguientes características: cocos G+, anaerobios facultativos, catalasa (+), O/F (+), inmóviles.

El antibiograma se realizó mediante el método de difusión en placa, en el medio Mueller-Hinton agar, con un inóculo de suspensión bacteriana ajustado a una turbidez de 0.5 de la escala de McFarland. Se incubaron 24 hs a 37°C, se testearon antibióticos pertenecientes a los siguientes grupos: betalactámicos, quinolonas, cloranfenicol, aminoglucósidos, sulfonamidas, macrólidos, tetraciclinas, lincosamidas y glicopéptidos. La lectura se realizó mediante la medición de los halos de inhibición y posterior comparación con los puntos de corte indicados de referencia.

Resultados

De los 80 aislamientos de *Staphylococcus* sp. analizados, el 66,4% presentó resistencia a dos o más grupos de antibióticos (multiresistencia), siendo un aislamiento resistente a 5 de los grupos de antibióticos testeados (1,3%), 8 aislamientos a 4 grupos (10%), 21 aislamientos a 3 grupos (26,3 %), 23 aislamientos a 2 grupos (28,8%). El 21,3% (17 aislamientos) presentó resistencia a solo un grupo de antibióticos.

El rango de resistencia varió entre 88,9% (8/9) para lincosamidas a 38,5% (5/13) para cloranfenicol (Tabla 1). Es de destacar que de las 5 cepas testeadas contra vancomicina, 4 resultaron resistentes.

Tabla 1: Susceptibilidad de los aislamientos de *Staphylococcus* sp. a los grupos antimicrobianos. T: total de cepas testeadas; R: cepas resistentes; S: cepas sensibles

Grupo antimicrobiano	T	R	R (%)	S	S (%)
Betalactámicos	79	57	72,1	22	35
Quinolonas	54	21	38,9	24	44
Aminoglucósidos	37	18	48,6	19	51,4
Sulfonamidas	34	22	64,7	12	35,3
Macrólidos	29	18	62,1	11	37,9
Tetraciclinas	21	10	47,6	11	52,4
Cloranfenicol	13	5	38,5	8	61,5
Lincosamidas	9	8	88,9	1	11,1
Glicopéptidos	5	4	80,0	1	20,0

Discusión

Staphylococcus sp. es el patógeno más aislado de infecciones de caninos y felinos en el LEEI. Este agente es capaz de generar diversas patologías, que en general, son tratadas de forma empírica por los veterinarios clínicos.

Teniendo en cuenta los antibióticos más usados en la clínica médica veterinaria (Nelson, 2006), es de destacar la cantidad de aislamientos que resultaron resistentes a los grupos de betalactámicos, sulfonamidas y quinolonas, 72%, 65% y 38,9%, respectivamente; los cuales son ampliamente utilizados en el tratamiento de patologías de piel, oído, tejido óseo, tracto urinario y aparato respiratorio.

Asimismo, se observó una resistencia del 90% a las lincosamidas, las cuales son muy utilizadas para el tratamiento de piodermias y osteomielitis.

Es importante tener en cuenta como limitación del estudio que no se testeó a la totalidad de los aislamientos en estudio con todos los grupos de antibióticos analizados.

Este trabajo contribuye a la vigilancia de la resistencia antibiótica en cepas bacterianas de origen clínico en veterinaria y previene sobre la necesidad de implementar medidas que contribuyan al uso racional de los antimicrobianos.

Bibliografía

- Cowan and Steel's (2006) Manual for the Identification of Medical Bacteria.
 - Nelson, R; Couto, G. (2006) Medicina Interna de pequeños animales
 - Tilley, L; Smith, F (2008). Blackwell's five minute veterinary consult canine and feline.
- Agradecimientos: a los docentes y alumnos del LEEI que procesaron las muestras.

B17- REPRODUCCION EXPERIMENTAL DE LA ENTERITIS POR *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS* TIPO E.

L.M. Redondo ^{1,2}; E. A. Redondo ^{1,2}; J.M. Diaz-Carrasco ^{1,2}; P. Geoghegan ³; A. Cangelosi ³; M.E. Fernandez-Miyakawa ^{1,2}.

¹Instituto de Patobiología, CICVyA - INTA, ² CONICET, ³ ANLIS.

Email: redondo. leandro@inta.gob.ar

Introducción:

Clostridium perfringens es un importante patógeno intestinal, que se encuentra en diversos ambientes, incluyendo el sistema digestivo de humanos y animales, donde forma parte de la microbiota normal. Los aislamientos de esta especie se clasifican en 5 toxinotipos (A, B, C, D y E) de acuerdo a la producción de 4 toxinas (alfa, beta, iota y épsilon). Las cepas pertenecientes al toxinotipo E son definidas por la producción de toxina iota, aunque la patogenia de estas cepas no se comprende totalmente, por analogía con otros toxinotipos se asume que la toxina iota posee un rol central en las enfermedades asociadas a estas cepas.

Los cuadros asociados a *C. perfringens* tipo E, se caracterizan por enteritis hemorrágica y muerte súbita que afecta a conejos, ovinos y bovinos. Esta enfermedad es considerada de baja ocurrencia y en la actualidad existen pocos reportes. A pesar de esto trabajos recientes proponen que la ocurrencia sería mayor a la considerada. En el presente trabajo se describe la reproducción experimental de las lesiones intestinales descritas en casos naturales mediante la inoculación intrainestinal de toxina iota purificada en ratones.

Materiales y métodos:

Ratones: Se utilizaron ratones de 20-25g, mantenidos bajo condiciones estándar. Todos los procedimientos descritos fueron revisados y avalados por el CICUAE (CICVyA-INTA).

Toxina iota: Ambas subunidades de la toxina iota fueron purificadas a partir de un sobrenadante de una cepa tipo E. Se utilizó una columna de DEAE-Sefarosa CL-6B y las fracciones de fueron eluidas con un gradiente lineal de NaCl. La pureza de la toxina fue verificada mediante SDS/PAGE teñido con Coomassie Blue.

Loops intestinales: Los animales fueron sometidos a ayuno de sólidos y líquidos previo al inicio de los ensayos. Los ratones fueron anestesiados con ketamina (100 mg/kg) y diazepam (5 mg/kg) por vía intraperitoneal. Mediante laparotomía medial se identificó el intestino delgado y se realizaron 2 ligaduras con hilo de algodón, se formaron 2 loops en íleon y colon. Las asas intestinales ligadas obtenidas se inocularon con 100 U y 50 U de toxina iota purificada disuelta en 0.25 ml de PBS. Como control se inoculó 0.25 ml de PBS sin toxina. Los ratones fueron mantenidos en plano anestésico hasta el final del ensayo.

Histopatología: Al finalizar el ensayo los animales fueron sacrificados e inmediatamente se aisló la porción del intestino ligada y se fijó por inmersión en formalina bufferada al 10% para realizar tinciones de hematoxilina-eosina (H/E) e inmunohistoquímica.

Resultados:

Alteraciones morfológicas: Al examen histológico de los tejidos control (PBS) únicamente fue posible observar edema y congestión leves. En los loops tratados con 50 U de toxina iota,

se observó denudación de la porción apical y atrofia de las vellosidades. También fue posible observar edema y presencia de infiltrado inflamatorio con predominio de polimorfonucleares. Se observaron cambios degenerativos en los enterocitos de las porciones apical y media de las vellosidades. En los loops tratados con 100 U se observó una marcada necrosis del epitelio con desprendimiento del mismo, presencia de vellosidades fusionadas o atrofiadas. En estos tejidos también fue posible observar formación de pseudomembrana y la presencia de infiltrado inflamatorio con predominio de polimorfonucleares en mucosa y submucosa. No se observaron diferencias entre los loops tratado y control realizados en colon.

Pegado de la toxina: En secciones de asas ligadas de íleon tratadas se observó un extenso pegado de la toxina a lo largo de la mucosa. La unión específica a células de la mucosa del epitelio se limitó al borde apical de los enterocitos, en estas células no se observó marca en el citoplasma y núcleo. El pegado de la toxina iota se observó unión en la punta, el centro y la base de las vellosidades. No se detectó marca en los tejidos controles analizados.

Discusión:

El presente estudio describe la reproducción experimental de las lesiones intestinales producidas por *C. perfringens* tipo E mediante la inoculación intrainestinal de toxina iota purificada. Aunque la enteritis asociada a estas cepas se describe principalmente en bovinos, las lesiones obtenidas utilizando al ratón como especie modelo son similares a las descritas en casos naturales de la enfermedad en bovinos. Trabajos previos han descrito el uso de ratones como modelo de infección para otros toxinotipos lo que ha permitido describir los mecanismos patogénicos en estos toxinotipos. La sensibilidad de los ratones a la inoculación sistémica de la toxina iota ha sido descrita con anterioridad, pero hasta el momento no existen trabajos que describan los efectos de la misma sobre el intestino de esta especie. El desarrollo de nuevos trabajos utilizando el modelo aquí descrito contribuirá a la comprensión de mecanismos de patogénesis involucrados en las infecciones por *C. perfringens* tipo E junto con la evaluación de nuevas medidas de control.

Referencias:

1. McClane B.A., Uzal F.A., Fernandez-Miyakawa M.E., et al.: 2004, The enterotoxigenic clostridia. 3rd ed. pp. 1–52. Springer-Verlag, New York, NY.
2. Redondo L.M., Farber M., Venzano A., Jost B.H., Parma Y.R., Fernandez-Miyakawa M.E. Sudden death syndrome in adult cows associated with *Clostridium perfringens* type E. *Anaerobe* 20 (2013).
3. Stiles BG, Pradhan K, Fleming JM, Samy RP, Barth H, Popoff MR. *Clostridium* and *Bacillus* Binary Enterotoxins: Bad for the Bowels, and Eukaryotic Being. *Toxins* 2014, 6

B18- IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE AISLAMIENTOS DE *PASTEURELLA MULTOCIDA* OBTENIDOS A PARTIR DE MUESTRAS PULMONARES EN BOVINOS, CERDOS Y AVES

N. Moiso¹, P. Tamiozzo², B. Pelliza²

1- Laboratorio de Salud Animal. Juan B Justo 269. Río Cuarto. Córdoba. CP 5800 E-mail: nicolasmoiso@gmail.com- 2- Facultad de Agronomía y Veterinaria-UNRC1- Depto Patología Animal- facultad de Agronomía y veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto. Ruta 36 km 601. Río Cuarto, Córdoba, Argentina. CP 5800.

Introducción

Pasteurella multocida es el agente causal de cuadros clínicos respiratorios y septicémicos que afecta tanto a animales domésticos como salvajes. Es una bacteria patógena Gram negativa, no móvil, cocobacilar, aerobia facultativo, no esporulada, fermentadora y oxidasa positivo. Cinco serotipos (A, B, D, E y F), basados en antígenos capsulares han sido identificados por hemaglutinación indirecta en *P. multocida* (Harper et al., 2006). En el presente trabajo se evalúa la factibilidad de clasificar cepas de campo mediante la técnica de PCR, que resulta en una especificidad mayor que las técnicas convencionales bacteriológicas.

Materiales y métodos

El trabajo se realizó entre el año 2014 y el año 2016 con las cepas de *P. multocida* aisladas a partir de pulmones provenientes animales con enfermedad clínica que arribaban al laboratorio cuya zona de influencia es el centro sur de la Provincia de Córdoba.

Las colonias primarias compatibles con el género *Pasteurella* fueron obtenidas a partir de pulmones provenientes de bovinos, porcinos y aves, que presentaron cuadros clínicos de neumonía y/o septicemia. Un total de 40 cepas (14 de bovinos, 16 de porcinos y 10 aviares) fueron aisladas y cultivadas en agar sangre a 37°C en condiciones de aerofilia. El ADN molde se obtuvo mediante lisis por calor. Como controles positivos y negativos se utilizó ADN de *P. multocida* ATCC 12945 y agua destilada respectivamente. Las técnicas de PCR se realizaron primero con el fin de identificar especie (amplificando un fragmento del gen KMT) y luego serotipos capsulares. Para ello se utilizaron los cebadores y las condiciones descriptas por Townsend et al. (1998) y Townsend et al. (2000) respectivamente. Los productos de la amplificación fueron analizados por electroforesis en geles de agarosa al 1 % teñido con bromuro de etidio y visualizados en un transiluminador de luz UV (Tm-20 Transiluminator, Alpha Innotech).

Resultados

Del total de cepas sospechosas (40), 32 fueron positivas a la PCR específica de especie, distribuidas del siguiente modo: 14 de bovinos, 16 de porcinos y 2 de aves. De estas 32, 21 resultaron positivas al serotipo A: 10 de bovinos, 9 de porcinos y 2 de aves y 11 al serotipo D: 4 de bovinos y 7 de porcinos.

Discusión

A partir de los resultados obtenidos, se evidencia el predominio de los serotipos capsulares A y D, que se corresponden con los cuadros clínicos hallados en las diferentes especies animales a partir de las cuales se realizaron los aislamientos. Así, en bovinos, el serotipo capsular A está asociado con neumonía y septicemia mientras que el serotipo D está implicado ocasionalmente produciendo neumonías (G. R. Carter). En porcinos, la mayor proporción de las cepas aisladas fueron serotipo A y esto coincide con estudios previos en donde se ha demostrado una mayor frecuencia de éste serotipo en procesos neumónicos (Borowsky et al., 2002), sin embargo hubo cepas que presentaron el serotipo D. En aves, el serotipo A está asociado con el cólera aviar (G. R. Carter), cuadro compatible con las aves que amplificaron productos de 1044 bp.

Independientemente de la identificación de serotipo capsular y su relación con la especie animal de la que fueron aisladas, el procedimiento realizado resultó eficiente para la detección de *P. multocida* y la identificación de serotipos capsulares. Este método de identificación mediante PCR ofrece mayor especificidad y rapidez de manera directa a partir de cultivos bacterianos sin la necesidad de purificación de ADN genómico. Importante a los fines diagnósticos y de investigación, la técnica utilizada es de elección para todo trabajo que requiera una adecuada identificación y caracterización taxonómica de cepas de *P. multocida*.

Bibliografía

- 1- Townsend et al. 1998. J. Clin. Microbiol. 36:1096–1100.
- 2- Townsend et al. 2001. J. Clin. Microbiol. 39: 924–929.
- 3- Harper et al. 2006. FEMS Microbiol. Lett. 265: 1–10.
- 4- Borowsky et al., 2002 Pesq. Vet. Bras. 22(3):97-103
- 5- Carter, G. R. et al. 1984 79:629 Vet Med

B19- OPTIMIZACIÓN DE LOS PROCEDIMIENTOS PARA LA DETECCIÓN DE *LAWSONIA INTRACELLULARIS* EN EXPLANTES INTESTINALES PORCINOS MEDIANTE PCR

PÉREZ GAUDIO DS^{1,2}; MARTÍNEZ G^{1,2}; FERNÁNDEZ PAGGI MB^{1,3}; RICCIO MB^{1,2}; DECUNDO J¹; DIEGUEZ S¹; TAPIA MO^{1,2}; SORACI AL¹

- 1- Área de Toxicología, Depto. de Fisiopatología, Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN-CONICET), Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA, Tandil, Argentina
 - 2- Área de Patología, Depto. de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA, Tandil, Argentina
 - 3- Área de Producción Porcina, Depto. de Producción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA, Tandil, Argentina
- Correo electrónico: denisa@vet.unicen.edu.ar

INTRODUCCIÓN

Lawsonia intracellularis (LAW), agente causal de la Enteropatía Proliferativa Porcina (EPP) es una bacteria microaerófila, Gram-, intracelular obligada, que afecta principalmente a los cerdos, aunque puede infectar a otros mamíferos como equinos, caninos y roedores. No crece en los medios convencionales *in vitro* y no existen técnicas serológicas capaces de detectarla (3). Su diagnóstico certero es complejo y consiste en PCR de materia fecal y mucosa intestinal e inmunohistoquímica. El tratamiento antibiótico de LAW se considera de eficacia incompleta, una observación que se ha interpretado como la adquisición de resistencia. Por otro lado, explantes intestinales han sido utilizados como modelo para el estudio de penetración de antibióticos en células intestinales (4). A causa de las complicaciones del crecimiento de LAW en cultivos celulares y a la necesidad de encontrar fármacos que penetren en los enterocitos para un tratamiento eficaz de la EPP, se consideró útil la optimización de una técnica de PCR que permita detectar su presencia en explantes intestinales. De este modo, estos luego podrían ser utilizados en estudios de penetración de antibióticos a fin de lograr un tratamiento eficaz de esta patología, causante de numerosas pérdidas económicas en la industria porcina.

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales: Cuatro cerdos clínicamente sanos en etapa de crecimiento-terminación.

Fuente de LAW: Vacuna viva atenuada, Enterisol Ileitis® (Boehringer-Ingelheim, Ingelheim, Alemania).

Primers: Forward (law-int146F; secuencia (5' a 3') ADN - GATAATCTACCTTCGAGACGG) y Reverse (law-745R; secuencia (5' a 3') ADN - TGACCTCAGTGTCAGTTATCGT) (2).

Obtención de explantes: Luego del sacrificio se extrajo el intestino delgado y se removió el contenido intestinal con solución fisiológica. Las muestras se transportaron (4 °C) al Laboratorio de Toxicología de la FCV-UNCPBA. Los explantes intestinales se efectuaron mediante una adaptación del método descrito por Niefeld et al. en 1991 (5), con algunas modificaciones. Los explantes se desafiaron con LAW, obtenida de la vacuna.

Determinación del tiempo de incubación con LAW: En cada pocillo de una placa de cultivo de seis pocillos se introdujo una esponja con su respectivo explante. En el centro del pocillo de la placa de cultivo se adicionó 1 mL de DMEM con GlutaMAXTM-I (Dulbecco's Modified Eagle Medium - High Glucose, Gibco®) y 1 mL de F-12 Nutrient Mixture (Gibco®). Por acción capilar, el medio cubrió las vellosidades y mantuvo viable al tejido. A cada explante se le adicionaron 0,50 mL de la vacuna conteniendo LAW. Se ensayaron distintos tiempos de incubación (8, 24 y 48 hs) para determinar el tiempo correcto de penetración de la bacteria al tejido. La placa fue mantenida en agitador a una temperatura constante de 37 °C. Se realizó histopatología de los explantes.

Optimización de la PCR para detección de LAW en mucosa intestinal: Como control positivo para la PCR de mucosa intestinal, se extrajo el ADN de LAW de la vacuna mediante calentamiento y fenol/cloroformo. Posteriormente, los explantes inoculados con la vacuna durante 24 hs se lavaron con agua HPLC para eliminar los microorganismos que no hayan ingresado a los enterocitos. Se colocaron en tubos de vidrio y fueron sometidos a homogeneización en equipo Ultraturrax. Se transfirieron a tubos de 1,5 mL y se adicionaron 50 µg/mL de proteinasa K y 500 µL de buffer de lisis (10 mM Tris, 25 mM EDTA, 100 mM ClNa, 0,50% SDS). Se efectuó una incubación durante la noche a 37 °C y se realizó extracción de ADN con fenol-cloroformo. Para la amplificación, se utilizaron 10 µL del material extraído. Se utilizó mucosa intestinal normal, sin inocular como control negativo, y como control positivo, el ADN

vacunal. Las condiciones de la PCR fueron: Buffer: 2,50 µL; Primers (20 pm): 1 µL, dNTPS: 1 µL (10 mM), Taq: 0,3 µL, ADN: 3 µL. MgCl₂ (50 mM): 2 µL y agua: 14,20 µL. Las reacciones fueron sometidas a 95 °C durante 15 min. en termociclador PTC-100 (MJ Research, Inc.). La amplificación se realizó durante 35 ciclos donde cada ciclo consistió en 95 °C durante 15 seg., 50 °C durante 1 min. 30 seg. y 72 °C durante 2 min. Finalmente, se efectuó una extensión a 72 °C durante 10 min. Los amplicones (10 µL), teñidos con SyBR Safe (Invitrogen Argentina S.A.), se visualizaron mediante electroforesis en un gel de agarosa al 1,20 %.

RESULTADOS

La presencia de LAW se constató mediante los cortes histológicos correspondientes a los tres tiempos de incubación. A las 8 hs, el microorganismo se encontraba en escasa cantidad y el tejido no presentaba alteraciones. A las 24 y 48 hs, el número de LAW presentes en el epitelio intestinal fue superior, aunque a las 48 hs de incubación, se observaron señales de daño tisular. El método más adecuado para extracción del genoma bacteriano fue la extracción mediante calentamiento de la vacuna. Se logró optimizar la técnica de extracción del ADN de LAW desde la mucosa intestinal, partiendo de explantes intestinales incubados con 1 mL de la vacuna Enterisol Ileitis®.

DISCUSIÓN

Los explantes intestinales procedentes de cerdos son un modelo útil para estudiar la concentración de antibiótico intracelular en condiciones *ex vivo*. A su vez, la utilización de los explantes reduce el número de animales a utilizar por tiempo de muestreo. La morfología tisular se encontró preservada en los cortes histológicos de los explantes teñidos con hematoxilina-eosina (HE) luego de 24 hs. En los cortes histológicos de los explantes incubados durante 8 hs con LAW, teñidos con Giemsa, se observó la presencia de los bacilos curvos intracelularmente, tal como lo demostraron Boutrup et al. en 2010 (1), quienes luego de 6 hs de desafiar loops intestinales con la vacuna Enterisol Ileitis®, encontraron al microorganismo en íntimo contacto con los enterocitos y bacterias aisladas en las vellosidades intestinales. Se determinó que el tiempo óptimo para evaluar la penetración de LAW en los enterocitos es a las 24 hs debido al mayor número de microorganismos intracelulares en los cortes histológicos y a la adecuada morfología tisular. La extracción del ADN de LAW por calentamiento de la vacuna a baño María (extracción por calor) a fin de ser utilizada como control positivo en la reacción de PCR, mostró ser sencilla, rápida y de bajo costo. Se puso a punto exitosamente el método de extracción del ADN de LAW desde la mucosa intestinal, partiendo de explantes intestinales incubados con 0,5 mL de la vacuna, mediante el uso de fenol- cloroformo. La optimización de estos procedimientos permitirá la detección de LAW en explantes intestinales infectados y facilitará los estudios de penetración intracelular de diversos antibióticos que puedan ser útiles para lograr un tratamiento eficaz de esta patología, que hasta el momento no se ha conseguido.

BIBLIOGRAFÍA

1. Boutrup TS, Schauser K, Agerholm JS, Jensen TK. (2010). Acta Vet Scand, 52:17.
2. La T, Collins AM, Phillips ND, Oksa A, Hampson DJ. (2006) Lett Appl Microb 42: 284-288
3. Lawson GHK, Mc Orist S, Jasni S, Mackie RA. (1993). J Clin Microbiol, 31, 1136-1142.
4. Martínez G, Pérez DS, Soraci AL, Tapia MO. (2012). Anal Vet, 3(2):11-16.
5. Niefeld JC, Tyler DE, Lenn RH, Cole JR., Latimer KS, Wayne AC. (1991). A J Vet Res, 52(7):1142-1146.

B20- DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS* EN CORDEROS MERINO DE LA PATAGONIA

AC Mignaqui¹; RB Marcellino²; JS Pappalardo²; CA Robles²

¹Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, CONICET, Estación Experimental Agropecuaria Bariloche, Grupo de Salud Animal, Modesta Victoria 4450, Río Negro, Argentina

²Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Estación Experimental Agropecuaria Bariloche, Grupo de Salud Animal, Modesta Victoria 4450, Río Negro, Argentina
e-mail: mignaqui.anaclara@inta.gob.ar

Introducción

Clostridium perfringens es una bacteria anaerobia, gram positiva, que se caracteriza por producir una gran variedad de toxinas. Cuatro de las cuales (α , β , ϵ , δ) permiten clasificar los aislamientos de *C. perfringens* en cinco tipos bacterianos (A, B, C, D y E).

C. perfringens puede aislarse del medio ambiente y del intestino de ovinos sanos, pero bajo ciertas condiciones se multiplica y comienza a producir grandes cantidades de toxinas que desencadenan diversas enfermedades. El tipo de *C. perfringens* más frecuentemente aislado de ovinos sanos es el tipo A, mientras que el tipo D es responsable de la enterotoxemia, una de las enfermedades clostridiales más importante en ovinos¹.

El objetivo del presente trabajo fue comparar el cultivo bacteriológico con una PCR múltiple para detectar los genes de algunas de las toxinas de *C. perfringens* utilizando como templado ADN extraído de caldo enriquecido con muestras de corderos Merino de la Patagonia.

Materiales y Métodos

Se tomaron 130 hisopados rectales de corderos clínicamente sanos pertenecientes al Campo Experimental de INTA EEA Bariloche. Las muestras fueron conservadas en glicerina al 50% V/V a temperatura ambiente hasta su procesamiento.

Las muestras se sembraron en caldo Tarozzi y se incubaron a 37°C por 24 h en jarras de anaerobiosis con una atmósfera de 95% H₂ y 5% CO₂. Se utilizaron 100 μ L de caldo Tarozzi para sembrar placas de agar sangre con neomicina (100 μ g/mL). Las placas se incubaron en anaerobiosis nuevamente por 24 h. Las colonias con doble halo de hemólisis compatibles con *C. perfringens* se identificaron con la tinción de Gram y las pruebas bioquímicas: lecitinasa, CAMP y tolerancia al O₂ (Fig. 1).

Por otro lado, se realizó la extracción de ADN mezclando 20 μ L de caldo Tarozzi con 150 μ L de la resina Chelex, se incubó 20 min a 65 °C, 8 min a 100 °C, se centrifugó 2 min a 10000 g y se recuperó el sobrenadante. El ADN extraído se utilizó como templado en una PCR múltiple utilizando *primers* previamente descriptos para los siguientes genes *cpa*, *cpb*, *etx*, *iA*, *cpe* y *cpb2*² (Fig. 1). Se utilizaron las siguientes condiciones que permitieron detectar las seis bandas en el mismo tubo de reacción: 0.4 μ M de *cpa*, 0.36 μ M de *cpb*, 0.5 μ M de *etx*, *iA*, *cpe* y *cpb2*, 0.6 μ M de *cpe*, 10 mM dNTPs, 2mM MgCl₂, 2 $\times$ PCR buffer TaqPegasus (PB-L, Argentina), 1.25 U DNA TaqPegasus, 1 μ L de ADN y agua hasta completar 25 μ L. Las condiciones de ciclo fueron las siguientes: 25 ciclos a 95°C por 1 min, 53°C por 1 min 72°C por 1 min y un paso adicional de 10 min a 72°C. La concordancia entre las dos técnicas se calculó mediante el valor kappa³.

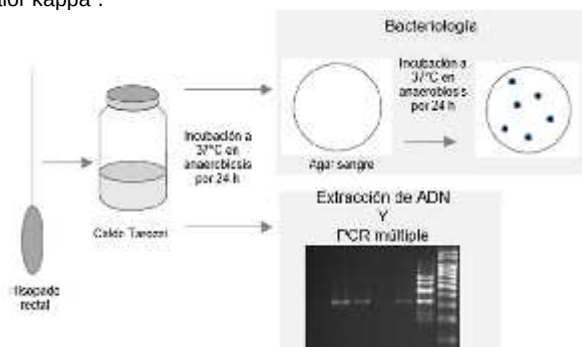


Fig 1: Esquema de procesamiento de las muestras.

Resultados

Fue posible aislar *C. perfringens* en el 55% de las muestras por bacteriología y detectar el gen de la toxina alfa en el 54% por medio de la PCR múltiple. Los resultados obtenidos por bacteriología y por PCR fueron concordantes, siendo el valor de Kappa de 0.94 (Tabla 1).

Solo cuatro muestras dieron resultados diferentes con ambas técnicas. Una fue positiva por PCR, pero negativa por bacteriología. La especificidad de la banda amplificada se confirmó por secuenciación. Por otro lado, en tres muestras fue posible aislar la bacteria pero no fue posible detectar el gen de la toxina alfa (Tabla 1).

La PCR múltiple realizada a partir del ADN extraído de caldo Tarozzi permitió detectar la presencia de *C. perfringens* a partir de la amplificación de la banda correspondiente al gen de la toxina alfa (*cpa*) y evaluar la presencia de genes que codifican para otras toxinas en la muestra. De hecho en dos muestras fue posible identificar otros genes además del gen de la toxina alfa. En una muestra fue posible detectar las bandas correspondientes a los genes *cpa* y *cpb* y en otra los genes *cpa*, *etx*, *cpe* y *cpb2*.

Tabla 1: Resultados obtenidos por bacteriología y PCR.

Bacteriología	PCR múltiple de caldo Tarozzi		Total
	+	-	
+	69	3	72
-	1	57	58
Total	70	60	130

Discusión

Los resultados obtenidos permiten concluir que realizar la PCR múltiple sobre caldo Tarozzi, previo al aislamiento de *C. perfringens*, es una alternativa útil a la hora de evaluar la presencia de *C. perfringens* en hisopados rectales de corderos Merino. La técnica permite no solo evaluar la presencia de *C. perfringens* por medio de la detección del gen *cpa* sino también obtener información sobre genes que codifican para otras toxinas.

A nivel diagnóstico representa un avance ya que es posible informar el resultado a las 24 h de recibida la muestra utilizando un método rápido y simple, que a su vez aporta información sobre los genes de las toxinas presentes en la muestra.

Referencias

- Uzal F A, Songer J G. Diagnosis of *Clostridium Perfringens* Intestinal Infections in Sheep and Goats. *J Vet Diagnostic Invest.* 2008; 20(3):253-265. doi:10.1177/104063870802000301.
- Meer R R, Songer J G. Multiplex polymerase chain reaction assay for genotyping *Clostridium perfringens*. *Am J Vet Res.* 1997; 58(7):702-705.
- Thrusfield M. *Veterinary Epidemiology*. 2nd ed. Cambridge: Blackwell Science.; 1995.

B21- HEMOGLOBINURIA BACILAR BOVINA: DESCRIPCIÓN DE 3 FOCOS EN PATAGONIA

Martínez, A¹; Alberghini, JP²; Centelles, I³; Palazuelos, A⁴; Cabrera, J⁴; Robles, C¹

¹Grupo de Salud Animal-INTA Bariloche; ²INTA-IPAF Cuyo; ³AER Chos Malal; ⁴Actividad Privada

Email: martinez.agustin@inta.gob.ar

Introducción. La Hemoglobinuria Bacilar Bovina (HBB) es una enfermedad toxi-infecciosa causada por *Clostridium haemolyticum* o *novyi* D¹. La presentación clínica es de curso agudo y se caracteriza por fiebre, decaimiento, ictericia y orina teñida de rojo. A la necropsia se observan áreas de necrosis en el hígado, hallazgo que es considerado como lesión patognomónica de la enfermedad². Siendo que en la Patagonia es una enfermedad frecuente³, en el presente trabajo se reportan tres focos ocurridos durante el 2016.

Materiales y Métodos. En el mes de Abril del 2016 se registraron tres focos de HBB. Los casos ocurrieron en el departamento Cushamen (Caso I) de la provincia de Chubut y en los departamentos Huiliches (Caso II) y Minas (Caso III) de la provincia de Neuquén. Los tres departamentos están ubicados sobre el oeste de dichas provincias. Se recolectaron datos anamnésicos, epidemiológicos y clínicos. Se realizó la necropsia a cuatro animales, se describieron las lesiones macroscópicas y se tomaron muestras de tejido que fueron fijados en formol bufferado al 10%, incluidas en parafina, cortadas a 5µm y teñidas con Hematoxilina y Eosina (HyE) y Gram.

Resultados. De los datos de la anamnesis se desprende que los animales estaban pastoreando en zonas húmedas e inundables conocidas como mallines. Todos los animales habían recibido vacunas anticlostridiales que incluyen *Cl. haemolyticum* y desparasitados contra *Fasciola hepatica*. La aparición de la enfermedad fue aguda: en los Casos I y III la sintomatología se caracterizó por decaimiento, segregación del grupo, emisión de orina roja oscura, epistaxis e ictericia de las mucosas con muerte dentro de las 24-36hs; en el Caso II el animal se encontró muerto sin signos previos. De las necropsias se destacan las siguientes lesiones macroscópicas: sobre la cara diafragmática del hígado había áreas únicas grandes de necrosis (10-15cm de diámetro) de color amarillo-gris delimitadas en forma irregular por una zona hiperémica a negra; estas áreas eran firmes al tacto y el tejido hepático contiguo estaba flácido. Las áreas necróticas se internalizaban en el parénquima hepático entre 3 a 6cm. En los tres casos fueron observados especímenes de *Fasciola hepatica* adultos. Otros hallazgos fueron la presencia de ictericia en subcutáneo y en la grasa de depósito, sangre en ollares y en materia fecal, petequias y equimosis en bazo, intestino delgado y peritoneo; en cavidad abdominal como torácica se detectó abundante colecta serosanguinolenta. La lesión histológica del tejido hepático se caracterizó por necrosis coagulativa, delimitado por una capa de células inflamatorias, principalmente neutrófilos degenerados. En las adyacencias del foco se observaron colonias de bacterias extracelulares de 1x7µm Gram positivas.

Discusión. Si bien para confirmar un diagnóstico de HBB se debe aislar el *Cl. haemolyticum*, debido a la dificultad para su aislamiento por la condición de anaerobio estricto, la rutina diagnóstica llevada a cabo en este trabajo es ampliamente utilizada^{4,5}. La información obtenida en la anamnesis junto con la clínica y los hallazgos de la necropsia permiten arribar, con un grado elevado de certeza, al diagnóstico de la enfermedad. Si además se obtienen frotis y trozos de hígado para tinción de Gram y estudios histopatológicos, y en el laboratorio se observan bacilos grandes Gram positivos y focos de necrosis coagulativa rodeado de células inflamatorias, la certeza se aproxima a un diagnóstico definitivo. Otras técnicas diagnósticas que se pueden utilizar son la inmunofluorescencia y la inmunohistoquímica sobre frotis o el corte histológico, respectivamente⁶. En los 3 casos se pudo comprobar la presencia de *Fasciola hepatica*, que es considerada el factor predisponente más relevante de la HBB. Esto es coincidente con los datos de la anamnesis de que los animales estaban pastoreando en mallines, donde la Fasciolosis es la parasitosis más frecuente³. Llama la atención que los tres rodeos habían sido vacunados y desparasitados, por lo que las muertes registradas pueden deberse a que los planes de prevención no fueron realizados en forma correcta contemplando los intervalos de aplicación, calidad y formulación de los inmunógenos como también el momento de aplicación y rotación de las drogas fasciolicidas utilizadas.

Referencias

- 1) Smith 1957. Clostridial diseases of animals. Adv Vet Sci 3: 465-524
- 2) Jubb & Kennedy 1993. Pathology of Domestic Animals, 6a ed. Nueva York. Academic Press.
- 3) Robles y Olaechea 2001. Salud y enfermedades de las majadas. Ganadería Sustentable en Patagonia Austral. Ed INTA.
- 4) Cantón y col 2009. Hemoglobinuria bacilar en el área de influencia de INTA Balcarce durante 2007-2009. Informe Técnico INTA.
- 5) Dutra y col 2012. Archivos Veterinario del Este. Boletín Nro. 16-17-18-19. Uruguay.
- 6) Uzal y col 1992. Bacillary Haemoglobinuria Diagnosis by the Peroxidase-Antiperoxidase (PAP) Technique. J. Vet. Med. B 39:595-598.

B22- EVALUACIÓN DE PARÁMETROS DE PATOGENICIDAD DE *CAMPYLOBACTER FETUS* EN CULTIVOS CELULARES: INFLUENCIA DE LA SUBESPECIE BACTERIANA Y LA MUESTRA DE ORIGEN

L. Chiapparrone ^{1,2}, P. Morán ³, E. Rodríguez ^{2,4}, C. Morsella ⁵, F. Paolicchi ⁵, P. Soto ^{1,2}, M. Catena ^{1,2}

1 Laboratorio de Microbiología Clínica y Experimental. Facultad de Ciencias Veterinarias. UNCPBA. 2 NACT - SAMP. Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN) – CONICET. 3 Área de Virología. Facultad de Ciencias Veterinarias. UNCPBA. 4 Área de Bioestadística. Facultad de Ciencias Veterinarias. UNCPBA. 5 Laboratorio de Bacteriología. Departamento de Producción Animal. EEA INTA Balcarce. mlchiapp@vet.unicen.edu.ar

Introducción. La campylobacteriosis genital bovina causada por *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis* y *Campylobacter fetus* subsp. *fetus*, es una enfermedad reproductiva de transmisión venérea que se caracteriza por producir pérdidas en la gestación temprana y abortos ocasionales (Clark, B.L. 1971). En la actualidad se desconocen los mecanismos de interacción de la bacteria con sus células blanco. Para iniciar los estudios referentes a dicha temática, se ha realizado la búsqueda de diferentes modelos experimentales. Como modelos de estudio *in vivo* se ha utilizado al huésped susceptible, no lográndose reproducir la enfermedad con éxito en animales de laboratorio (Corbeil, L.B. 1980; Doig, P. *et al* 1996). Las líneas celulares MDBK, HEp-2, CHO y VERO se han utilizado como modelos alternativos *ex vivo* (Chiapparrone, M.L. *et al* 2008). El objetivo del presente trabajo fue evaluar parámetros de patogenicidad para *Campylobacter fetus* y analizar la influencia de la muestra de origen y la subespecie bacteriana de las cepas sobre los mismos.

Materiales y Métodos. Noventa y cinco cepas indígenas de *C. fetus* aisladas de bovinos entre los años 1997 y 2014, provenientes del cepario del Laboratorio de Microbiología Clínica y Experimental de la Facultad de Ciencias Veterinarias (UNCPBA) y del Laboratorio de Bacteriología (EEA-INTA Balcarce) fueron conservadas en nitrógeno líquido como primoaislamientos para su caracterización. Las cepas fueron aisladas a partir de muestras de esmegma prepucial (n=11), de mucus cérvico vaginal (n=35) y de fetos (n=49). Los cultivos de células MDBK (ATCC, Rockville, MD, EE.UU.) fueron mantenidos en MEM suplementado con 10% de suero fetal bovino y solución de antibióticos en botellas (IWAKI 25cm²/ Canted Neck, 3100-025). Una vez lograda la semiconfluencia celular, la monocapa fue amplificada por tripsinización en placas de seis pocillos con una concentración de 1×10^4 células / mL. La incubación se realizó en estufa a 37 °C con atmósfera de 5% de CO₂ y humedad constante. Las monocapas fueron desafiadas con las diferentes cepas con una DO₆₀₀ de 0,5 y en una relación de 1/10 (vol inóculo/vol medio de cultivo) por tiempos variables de acuerdo al objetivo del ensayo: evaluación de la capacidad de adhesión y efecto citopatogénico. La adhesión bacteriana se midió a las tres horas pos-inoculación, con lavados posteriores y tinción de Giemsa al 10% (100X). Se consideró adhesión cuando se observaron las campylobacterias en las células en distinto plano que el núcleo. A partir de la lectura de campos escogidos al azar, se contabilizaron 100 células para cada una de las cepas en análisis y se calcularon los siguientes indicadores: porcentaje de adhesión a las células = N° de células con *C. fetus* y número de bacterias adheridas por célula = N° de *C. fetus* por célula. Para evaluar el efecto citopatogénico, las cepas fueron cocultivadas en las monocapas durante 48-72 h. Para registrar alteraciones celulares, los cultivos se evaluaron diariamente por observación microscópica en fresco con microscopio óptico invertido (10X y 20X) y cumplimentado el tiempo de incubación, por tinción de Giemsa (40X y 100X). La observación microscópica permitió registrar los siguientes parámetros: alteraciones citoplasmáticas y nucleares. También se calculó el Coeficiente de Distensión Celular (F) considerando una célula no distendida aquella con un valor de F<1,3 (Catena, M. 2002). Como control se utilizaron monocapas celulares sin desafiar. Todos los ensayos fueron realizados por duplicado. Para determinar la viabilidad de la bacteria hasta la finalización del ensayo, se tomaron alícuotas

de sobrenadante para su observación directa en campo oscuro y siembra en medios de cultivo convencionales. Para evaluar el efecto de la muestra de origen y la subespecie de las cepas, sobre los indicadores de patogenicidad evaluados, se realizó un análisis de variancia (ANOVA) con un modelo factorial con el procedimiento GLM del SAS V9.3 (SAS Institute Inc. Cary, NC, USA).

Resultados. El 100% de las cepas fueron adherentes no invasivos. Los porcentajes de adhesión se ubicaron entre 17 y 35%, el promedio del número de *C. fetus* por célula fue de 2,3. La adhesión de las cepas de distintos orígenes presentó diferencias (p<0.0001) con valores de adhesión de 21.3%, 27.1% y 31.4% para toro, hembra y feto, respectivamente y las diferencias entre las subespecies no fueron significativas (p=0.4453). La variable cantidad de *C. fetus* por célula, no presentó diferencias entre orígenes (p=0.1194) y subespecie (p=0.8998). En el 100% de los cultivos celulares desafiados se observó efecto citopático y distensión celular. El porcentaje del efecto fue entre 40 y 100% y los resultados para el F variaron entre 1,3 y 2,1. Los hallazgos microscópicos descriptos por tinción de Giemsa y la observación diaria en fresco, permitieron establecer una secuencia: granulación del citoplasma con presencia de vacuolas de tamaño variable, distensión y redondeamiento celular, condensación nuclear y desprendimiento de la monocapa. Los porcentajes de células con daño presentaron diferencias entre los orígenes, con 60.7%, 69.1% y 85.5%, para toro, hembra y feto, respectivamente (p<0.0001) y las subespecies no presentaron diferencias (p=0.6609). El factor de distensión no presentó diferencias para los distintos orígenes (p=0.1823) y subespecies (p=0.3617). La interacción entre el origen y la subespecie de la cepa no fue significativa para ninguna de las variables estudiadas.

Discusión. Los resultados nos permiten inferir que la patogenicidad de *C. fetus* se iniciaría con la adhesión a sus células blanco, desarrollándose a continuación una secuencia ordenada de cambios celulares que conducirían a la muerte celular. El modelo nos permitió observar diferencias en el comportamiento fenotípico de *C. fetus*, no asociadas a la subespecie bacteriana sino al origen de los aislamientos, esto podría deberse a un comportamiento diferencial del microorganismo dentro de sus diferentes hospedadores naturales.

Bibliografía. 1- Clark, B.L. (1971). Revisión de la Vibriosis Bovina. Australian Veterinary Journal. Vol. 47. 103-107;

2- Chiapparrone M.L.; Catena M.; Rodríguez E.; Echevarría H.; Monteavaro C.; Morán P.; Arroyo G.; Soto P. Evaluación de la adhesión de *Campylobacter fetus venerealis* en diferentes líneas celulares. XIII Jornadas Argentinas de Microbiología. Libro de Resúmenes de las XIII Jornadas Argentinas de Microbiología. Pág. 181. Rosario. Santa Fe. 9, 10 y 11 de octubre de 2008; Catena, M. (2002).

3- Campilobacteriosis genital bovina: inmunopatogenia de la mortalidad embrionaria. Tesis doctoral para obtener el grado académico de Doctor en Ciencia Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias. UNCPBA. 1-134; Corbeil, L.B. (1980).

4- Criteria for Development of Animal Models of Diseases of the Reproductive System. American Journal of Pathology. Vol. 101. Nº3S. S241-254; Doig, P.; Yao, R.; Burr, D.H.; Guerry, P.; Trust, T.J. (1996). An environmentally regulated pilus-like appendage involved in *Campylobacter* pathogenesis. Molecular Microbiology. Vol. 20. Nº 4. 885-894.

B23- DESCRIPCIÓN DE PROTEÍNAS DE *CAMPYLOBACTER FETUS* CON POTENCIALIDAD DIAGNÓSTICA

MV. Gal¹, S. Cravero¹, C. Morsella², F. Paolicchi², A. Gioffré¹

¹Instituto de Biotecnología CICyA-INTA, Castelar - ²Laboratorio de Bacteriología, EEA-INTA Balcarce

gal.veronica@inta.gob.ar

Introducción

La campilobacteriosis genital bovina es una enfermedad venérea causada por *Campylobacter fetus venerealis* (Cfv). La enfermedad causa muerte del embrión, abortos y reducción de la fertilidad en bovinos (Campero et al., 2003). Cfv se encuentra restringido al tracto genital bovino, pero está altamente relacionado con *Campylobacter fetus fetus* (Cff). Cff ha sido aislado de ungulados, aves, reptiles y humanos. Dichos hospedadores pueden ser transportadores intestinales por largos períodos de tiempo y el tracto genital puede infectarse a través de esta persistencia. Por lo tanto, Cff puede aislarse también de muestras donde se busca Cfv (van Bergen et al., 2005). El diagnóstico en nuestro país se realiza a través de Inmunofluorescencia Directa. Es una técnica conveniente por su simplicidad y rapidez y está prescripta por la OIE. Sin embargo, no permite diferenciar entre subespecies, se ha descrito una baja sensibilidad, especialmente en toros (Marcellino RB, et al. 2015) y las reacciones cruzadas con otras especies son posibles. El secretoma (totalidad de las proteínas secretadas por la célula al medio extracelular) de *Campylobacter fetus* no se encuentra caracterizado y representa potencialmente una fuente de moléculas que permitirá incrementar tanto el conocimiento en torno a la patogenia de la bacteria como así también el mejoramiento del diagnóstico. Por lo tanto, el principal objetivo del presente trabajo es caracterizar las proteínas inmunodominantes secretadas de la bacteria.

Materiales y métodos

Se sembraron las bacterias en placas de agar Skirrow y se incubaron a 37 °C en microaerofilia (85% N₂, 10% CO₂ y 5% O₂) durante 72 horas. Para el crecimiento posterior en caldo, se tomaron colonias aisladas de placa y se inocularon en medio Brucella suplementado con antibióticos (Campylobacter Selective Supplement, Skirrow, OXOID). Las bacterias fueron cosechadas por centrifugación y el sobrenadante fue filtrado (0,22 µm). Las proteínas del sobrenadante fueron obtenidas por precipitación con ácido tricloro acético al 10%. Para resolver las proteínas se realizaron corridas electroforéticas en geles de poliacrilamida al 12 % siguiendo el protocolo de Laemmli. Las proteínas se visualizaron mediante la tinción con Coomassie blue y la detección inmunológica se realizó por Western blot. Como anticuerpo primario se utilizaron un suero anti-proteínas totales de *Campylobacter fetus*, producido en conejo (Laboratorio Azul) y sueros de bovinos infectados con Cfv. Se utilizaron anticuerpos secundarios anti-conejo y anti-bovino, respectivamente. Se reveló la interacción mediante reacción colorimétrica (NBT/BCIP, Promega).

Resultados

El análisis comparativo del perfil proteico del extracto celular y las proteínas secretadas revela que, si bien tienen un patrón de bandas en común, hay proteínas expresadas diferencialmente en ambas fracciones. Del análisis por Western blot con el suero anti-proteínas totales, pudimos observar una respuesta dirigida a múltiples componentes de la bacteria. En el caso de los sueros de bovinos infectados, se observaron bandas inmunorreactivas semejantes en las dos fracciones analizadas, por lo que no habría diferencias significativas entre los antígenos de las distintas fracciones.

Discusión

La importancia de las proteínas secretadas al medio extracelular y de las expuestas en la superficie de la bacteria, radica en que estas son fundamentales en la interacción hospedador-patógeno, constituyendo buenos candidatos para el desarrollo de vacunas, drogas terapéuticas y diagnóstico.

A través del presente trabajo se evidenciaron proteínas inmunodominantes tanto en el extracto celular como en la fracción secretada. Probablemente algunas de estas proteínas correspondan a las proteínas SAP (Surface Array Protein) y a proteínas de membrana externa (OMPs), en concordancia con lo descrito anteriormente por otros autores (García et al., 1995). La posterior identificación, clonado y obtención de las proteínas en forma recombinante permitirá generar herramientas para el diagnóstico específico y sensible en nuestro país.

Bibliografía

- Campero CM et al. Aetiology of bovine abortion in Argentina. Vet Res Comm 2003, 27: 359-369
- van Bergen MA, et al. Global detection and identification of *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis*. Rev Sci Tech. 2005, ;24(3):1017-1026.
- Marcellino RB et al. Eficiencia del cultivo bacteriológico y de la inmunofluorescencia en la detección de *Campylobacter fetus* en fluidos genitales bovinos. Rev Argent Microbiol. 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ram.2015.03.008>
- García MM et al. Protein shift and antigenic variation in the S-layer of *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis* during bovine infection accompanied by genomic rearrangement of sapA homologs. Journal of Bacteriology. 1995;177(8):1976-1980.

B24- ESTAFILOCOCOS RESISTENTES A LA METICILINA (SRM) EN ANIMALES: IMPORTANCIA DE SU IDENTIFICACION PARA LA SALUD ANIMAL Y LA SALUD PÚBLICA

G. Giacoboni¹, F. Vinocur¹, N. Fauret¹, P. Manzuc¹, J. Gardinetti, M. Kienast¹, J. Cappuccio¹, C. Perfumo¹

Facultad de Ciencias Veterinarias Universidad Nacional de La Plata gJacoboni@fcvunlp.edu.ar

Introducción

Staphylococcus aureus (SA) es la especie más representativa de las infecciones producidas por estafilococos coagulasa positivos. Sin embargo actualmente *Staphylococcus pseudintermedius* (S.Ps) del llamado grupo *S.intermedius* (GPI: *S.intermedius*/*S. delphini*/*S.pseudintermedius*) se reconoce como el comensal más frecuente en la piel y mucosas del canino (1). Por otra parte las especies de estafilococos coagulasa negativos (ECN) han tomado relevancia en la patologías veterinarias, por ejemplo en mastitis bovinas (2). Un denominador común que tienen los estafilococos tanto coagulasa positivos como negativos es la capacidad de adquirir e integrar un elemento genético móvil llamado *SSCmec* (cassette cromosómico) que alberga al gen *mecA* y le confiere resistencia a los antibióticos betalactámicos. Las pruebas de sensibilidad antimicrobiana pueden predecir fenotípicamente la presencia del gen *mecA* y la resistencia a los antibióticos betalactámicos pero es imprescindible la identificación de especie ya que se utilizan diferentes discos de antimicrobianos para realizar la prueba de laboratorio. Así para determinar la resistencia a la meticilina y predicción del gen *mecA* en SA y ECN en el antibiograma por difusión se utiliza el disco de cefoxitina 30µg y para S.Ps el disco de oxacilina 1 µg. La identificación de especies se convierte en un factor relevante para la realización, interpretación y emisión de resultados del antibiograma para el *Staphylococcus*.

Este trabajo aporta los datos que se han registrado en la FCV UNLP de estafilococos resistentes a la meticilina (SRM) en diferentes especies de animales doméstico, tanto de muestras clínicas como de estudios dirigidos a su búsqueda. El propósito es alertar a la comunidad veterinaria sobre la circulación de bacterias con la capacidad de transmitir resistencia a un importante espectro de antimicrobianos utilizados para el tratamiento de enfermedades frecuentes, así como también la importancia y rol del laboratorio para realizar una prueba de sensibilidad antimicrobiana correcta a partir de la identificación de especie.

Materiales y métodos

Cepas aisladas de muestras clínicas de caninos: 18 cepas *S.pseudintermedius* (16 de piel y 2 de hisopado ótico). Cepas aisladas estudios dirigidos a la búsqueda de SRM en granjas porcinas de cría intensiva: estudio transversal: 3 ECN (2 *S.sciuri* y 1 *S.simmulans*). Estudio longitudinal 34 SCN (16 *S. haemoliticus*, 14 *S. sciuri*, 1 *S. lentus*, y 3 no identificados por ninguna metodología). Cepas aisladas de equino deportivos SPC: 9 cepas de SA.

Aislamiento e identificación de especie

Para aislar las cepas, independientemente de la especie animal de origen, se utilizó caldo tripticasa soya con el agregado de 6.5% de CINA como preenriquecimiento 24 hs a 37°C. Los medios selectivos para estafilococos fueron el agar manitol salado y en algunos casos (según subsidio del proyecto) CHROMagarTM MRSA (para aislamiento y diferenciación de SA resistentes a la meticilina). Las colonias sospechosas fueron repicadas en agar tripticasa soya para la posterior identificación por pruebas bioquímicas.

La identificación de especies se realizó por las siguientes pruebas bioquímicas: coagulasa, Voges Proskauer, fermentación de trehalosa, manitol y maltosa, hidrólisis de la arginina y L-pirrolidoniarrilamidasa (PYR).

Los SCN se identificaron presuntivamente por fermentación de azúcares y la identificación definitiva por espectrometría de masa (MALDI-TOF).

La sensibilidad antimicrobiana se realizó por el método de difusión en agar según normas Vet-01-A4 del CLSI para animales y la interpretación según el documento Vet-01-S2.

Resultados

Hasta el momento se pudieron aislar 64 cepas SRM a partir de caninos, cerdos y equinos, según se muestra en la tabla 1

Tabla 1: Cantidad y tipo de estafilococos resistentes a la meticilina aislados por especie animal

NºSMR	Especie animal	Estafilococo
18	Canina	<i>S. pseudintermedius</i>
37	Porcina	Estafilococos coagulasa negativa
9	Equina	<i>Staphylococcus aureus</i>
64	total	SMR

Discusión

Las especies del género *Staphylococcus* están involucradas como patógenos en numerosas infecciones de los animales domésticos. Los resistentes a la meticilina lo son a la mayoría de los antibióticos betalactámicos y algunos otros antimicrobianos representando así un grave problema para instaurar un tratamiento eficaz en la clínica médica. Si bien desde la década del 70 se reportan SARM (*Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina) aislados en animales (mastitis, heridas quirúrgicas de equinos, caninos hospitalizados) fue en año 2005 cuando emergió la aparición de una línea genética de SARM (ST398) en cerdos, bovinos y equinos a los que se denominó LA-SARM por estar asociados a los animales de granja (livestock) (3) En caninos S.Ps se reportan con altos índices de resistencia a la meticilina en todo el mundo y ya se registran casos en humanos (veterinarios y propietarios). Los caballos también pueden ser portadores de LA-SARM y está confirmado en el personal que los atiende. En cuanto a los ECN se sabe que son importantes reservorios de genes tanto de virulencia como de resistencia antimicrobiana. En los cerdos habitan como flora normal en las fosas nasales y es posible que sean reservorios para la transmisión del gen *mecA* a cepas de estafilococos meticilino sensibles (4). Estos nuevos conceptos ponen en alerta a la Salud Pública por el riesgo ocupacional que tienen las personas que trabajan en granjas con este grupo de animales así como también los propietarios que están en estrecho contacto con sus mascotas (5). El aislamiento, identificación de especie de estafilococo y pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos en el laboratorio son prácticas que colaboran para establecer la eficacia en el tratamiento del animal y el uso prudente y responsable del antimicrobiano que el médico veterinario prescribirá con el apoyo del Laboratorio de Diagnóstico.

Bibliografía

1. Bannoher y col. 2012; Vet. Dermatol 23:253-e52
2. Raspanti y col. 2016 Revista Argentina Microbiología
3. Guardabassi y col. 2013 Journal of Global Antimicrobial Resistance 1:25-36
4. Nemeghaire y col; 2014 Veterinary Microbiology, 171:342-356
5. Weese y col. 2006; Veterinary Microbiology, 115:148-155

B25- PÉRDIDAS REPRODUCTIVAS EN BOVINOS DE LA REGIÓN PAMPEANA ASOCIADOS A SEROPOSITIVIDAD A *LEPTOSPIRA INTERROGANS SEJROE WOLFFI* Y *HARDJO*

G Cantón^{1*}, A Fiorentino¹, A Moreira¹, Y Hecker², A Verna^{1,2}, P Moore², F Paolicchi¹, L Lischinsky¹, N Licoff³, A Odeón¹, E Odriozola¹, E Morrell¹, B Brihuega⁴.

¹INTA, EEA Balcarce. ²CONICET. ³Actividad privada. ⁴Instituto de Patobiología, INTA, Castelar. *canton.german@inta.gob.ar

Introducción

La leptospirosis es una enfermedad infecciosa que afecta a diferentes especies animales y es considerada la zoonosis más comúnmente diagnosticada en el mundo. Los serovares de *Leptospira* spp. adaptadas al bovino tienen tendencia a causar pérdidas reproductivas endémicas, mientras que las no adaptadas provocan altas tasas de abortos, provocando grandes pérdidas económicas. El objetivo del presente reporte es describir episodios de pérdidas reproductivas diagnosticados por el Servicio de Diagnóstico Veterinario Especializado (SDVE) del INTA EEA Balcarce en rodeos bovinos de la región pampeana.

Materiales y métodos

Desde enero del 2014 hasta junio del 2016 se recibieron en el SDVE muestras de mucus cérvico vaginal (MCV) (n=113) y sueros (1013) de vientres bovinos que perdieron la gestación y 106 fetos bovinos abortados. De todos estos, se incluyeron en este estudio muestras de vacas (174) y vaquillonas (27) que perdieron la gestación (17 MCV y 172 sueros) y fetos bovinos abortados (5) de 9 establecimientos (E) ganaderos de cría (6) o tambos (3) de las provincias de Córdoba (Cba; 1) y Buenos Aires (BA; 8) (Tabla 1). En la información anamnésica provista por los veterinarios se menciona que eran sistemas pastoriles (4) o con suplementación (2), en los que se realizaban servicio natural (3) o inseminación artificial (2) y repaso con toros (1). Los rodeos afectados tenían entre 375 y 2600 vientres. En 3 de estos rodeos se menciona la aplicación de vacunas reproductivas. Como signos clínicos de las pérdidas reproductivas se mencionaron bajos índices de preñez (3), abortos (4) y vacas sin terneros al pie (1). Las muestras de MCV de animales abortados de 4 rodeos fueron remitidas en medios de Caldo de hígado (cultivo de *Tritrichomonas foetus*), Cary Blair (cultivo de *Campylobacter fetus*), Amies (cultivo bacteriológico) y Hank's (cultivo viral). En las muestras de sangre se analizó la presencia de anticuerpos contra enfermedades abortigénicas: *Brucella abortus* (BPA, Wright y 2-ME); Herpesvirus bovino (HVB) y virus de la Diarrea viral bovina (vDVB) [seroneutralización viral (SNV)]; *Neospora caninum* [inmunofluorescencia indirecta (IFI) y *Leptospira* spp [test de aglutinación microscópica (MAT)]. De los fetos necropsiados se recolectaron muestras de: pulmón y contenido de abomaso para cultivos bacteriológicos (en aerobiosis, atmósfera con un 10% de CO₂ y microaerofilia) y para cultivo de *T. foetus*; bazo para aislamiento viral; encéfalo para PCR de *N. caninum*; improntas de riñón, pulmón y humor acuoso para detección de *Leptospira* spp. por inmunofluorescencia directa (IFD); fluido de cavidades para SNV (HVB y vDVB) e IFI para *N. caninum*. También se recolectaron tejidos que fueron fijados en formol tamponado al 10% para análisis histopatológico.

Tabla 1: Detalle de los establecimientos incluidos en este análisis.

E	Mes/Año	Ubicación	Sistema	Muestras
1	06/2014	BA / Ayacucho	Cría	MCV, sangre
2	06/2014	BA / Madariaga	Cría	Sangre, fetos
3	08/2014	BA / Villegas	Tambo	Sangre
4	09/2014	BA / Monte	Cría	MCV, sangre
5	07/2015	BA / Azul	Cría	MCV, sangre
6	08/2015	BA / 25 de Mayo	Tambo	Sangre
7	01/2016	Cba / M. Juárez	Tambo	Sangre, feto
8	01/2016	BA / Tejedor	Cría	Sangre
9	04/2016	BA / San Cayetano	Cría	MCV, sangre

Resultados

En fetos analizados del E2 se corroboró la presencia de *Leptospira* spp. mediante IFD en improntas de riñón e hígado. El resto de los especímenes resultaron negativos a los otros patógenos abortigénicos. Se observaron lesiones compatibles: ictericia en serosas, pleura, peritoneo y tejido adiposo, aparente retención de pigmentos en hígado, riñones oscuros. Se corroboró meningitis, pericarditis, miocarditis, glositis no supurativa leve a moderada. En el feto analizado del E7 no se identificó *Leptospira* spp. mediante IFD, aunque se detectaron lesiones compatibles con una causa infecciosa:

meningoencefalitis, enteritis, neumonía, abomasitis, hepatitis periportal y pielitis no supurativa leve a moderada. Se aisló *Trueperella pyogenes* de pulmón y líquido de abomaso de este feto, y se amplificó ADN de *N. caninum*. El resto de los análisis resultaron negativos.

En algunos MCV de los E5 y E9 se aislaron *T. pyogenes* o *Campylobacter bubulus*. En 1 MCV del E4 se identificó *C. fetus* por IFD. En algunos MCV de los E5 y E9 se aisló HVB-4. De los sueros del caso E4, el 50% y el 4% resultaron sospechosos y positivos a Brucelosis, respectivamente. En los E3, E5, E6, E7 y E8 se detectaron entre el 9,1 y 69,2% de las muestras de suero positivas a *N. caninum*. En las muestras de los E1, E4, E5, E6, E7, E8 y E9 se detectaron seroprevalencias del 25,0-95,6% y del 0,0-100,0% para HVB y vDVB. Sin embargo en todos los rodeos analizados se encontraron títulos a diferentes serovares de *Leptospira* spp. (tabla 2).

Tabla 2: MAT para *Leptospira*. Cantidad de animales serorreacores/total muestreados; título más elevado.

E	Lbc	Lcc	Lgg	Lic	Lpp	Lsw	Lsh	Ltt
1	-	-	-	-	-	3/12 1:1600	3/12 1:1600	-
2	-	-	-	-	1/8 1:200	8/8 1:400	8/8 1:1600	1/8 1:200
3	-	2/13 1:200	-	-	-	6/13 1:1600	5/13 1:800	-
4	-	-	-	-	11/22 1:800	11/22 1:400	18/22 1:800	-
5	-	-	-	-	1/11 1:200	2/11 1:200	8/11 1:1600	-
6	-	3/27 1:200	11/27 1:400	1/27 1:200	14/27 1:3200	21/27 1:800	16/27 1:1600	1/27 1:200
7	1/47 1:200	1/47 1:200	1/47 1:200	1/47 1:200	1/47 1:200	-	38/47 1:1600	-
8	-	-	-	-	3/25 1:200	7/25 1:800	14/25 1:1600	-
9	-	-	-	-	-	-	4/7 1:1600	-

Serogrupo/Serovar: Lbc: *Leptospira* Ballum Castellonis; Lcc: *Leptospira* Canicola Canicola; Lgg: *Leptospira* Grippityphosa Grippityphosa; Lic: *Leptospira* Icterohaemorrhagiae Copenhageni; Lpp: *Leptospira* Pomona Pomona; Lsw: *Leptospira* Sejroe Wolffi; Lsh: *Leptospira* Sejroe Hardjo; Ltt: *Leptospira* Tarassovi Tarassovi

Discusión y conclusiones

El diagnóstico de las pérdidas reproductivas es complejo y muchas veces de etiología múltiple en rodeos de producción extensiva. Si bien en algunos de los casos analizados se diagnosticaron directa o indirectamente infecciones por otros abortígenos (Brucelosis, Neosporosis, Campylobacteriosis, enfermedades virales), abortígenos esporádicos (*T. pyogenes*) o virus de los que se desconoce su rol patogénico (HVB-4), no se pudo asociar a estos como causales de todas las pérdidas. Los agentes más frecuentemente detectados fueron serovares de *Leptospira* adaptados a rumiantes: 57/172 y 114/172 serorreacores para Lsw y Lsh, respectivamente, con títulos elevados. Si bien ya se han detectado infecciones con estos serovares como causales de abortos, en los últimos años se ha observado una mayor prevalencia. La presentación clínica y el control de estas infecciones suele ser complejo.

Se debe considerar además la hipótesis que el cambio climático pronosticado para las próximas décadas afecta a varios factores ecológicos que llevan a un aumento en la incidencia de brotes de leptospirosis, con las consiguientes implicancias regionales tanto en la salud pública como animal.

Por lo antes mencionado se debe aumentar el conocimiento de la extensión de infecciones por serovares adaptados de *Leptospira* y el rol de bovinos reservorios en los rodeos locales.

Bibliografía

- Campero et al. 2003. Vet Res Comm 27: 359-369.
- Ellis WA. 1984. Prev Vet Med 2: 411-421.
- Lau et al. 2010. Trans R Soc Trop Med Hyg 104: 631-638.
- Liboreiro et al. 2014. XX AAVLD.

B26- ADENITIS EQUINA: IDENTIFICACIÓN DE LOS ALELOS *seM* DE *STREPTOCOCCUS EQUI* SUBSP. *EQUI* CIRCULANTES EN LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES DURANTE 2010-2013

C Bustos^{1,2}, M Mesplet¹, J Marfil¹, N Lanza¹, N Guida¹

¹Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Enfermedades Infecciosas, Buenos Aires, Argentina. ²Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) carlabustos@fvet.uba.ar
El trabajo fue financiado por la Universidad de Buenos Aires, Proyecto de Investigación UBACyT 2011-2014 (20020100100149)

Introducción

La adenitis equina es una enfermedad infecciosa que causa faringitis y linfadenitis de cabeza y cuello principalmente de equinos jóvenes y que está ampliamente difundida afectando a la industria equina. Su agente etiológico es *Streptococcus equi* subsp. *equi* (*S. equi*), un coco grampositivo del grupo C de Lancefield que posee como principales factores de virulencia la cápsula y la proteína M (*SeM*).

Diversos métodos de epidemiología molecular fueron utilizados para tipificar *S. equi*, pero debido a su estabilidad genética, sólo se encontraron buenos resultados con las técnicas de *pulsed-field gel electrophoresis* y la secuenciación de la región variable de la *SeM* que derivó en la creación de una base de datos internacional de alelos *seM* que permite la comparación de cepas (Kelly, 2006; Libardoni, 2015; Lindahl, 2011; Moloney, 2013).

El objetivo de este trabajo fue identificar los alelos *seM* de aislamientos de *S. equi* circulantes en la provincia de Buenos Aires durante 2010-2013.

Materiales y Métodos

Se trabajó con un total de 42 aislamientos de *S. equi*: 28 aislamientos de 28 animales enfermos y 14 aislamientos de 8 animales portadores procedentes de diferentes establecimientos de la provincia de Buenos Aires.

Se amplificó un segmento de 541 pb del gen *seM* utilizando los primers ASW73F y ASW74R descritos previamente por Kelly *et al.* (2006) para su posterior secuenciación en la Unidad de Genómica del Instituto de Biotecnología CICVyA del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) Castelar mediante electroforesis capilar en secuenciadores automáticos.

Se alinearon las secuencias obtenidas con las publicadas en el GenBank (National Center for Biotechnology Information, NCBI) y se determinaron los alelos *seM* de los aislamientos comparando la secuencia de 327 nucleótidos que codifica para la región aminoterminal variable de la proteína *SeM* con las secuencias publicadas en <http://pubmlst.org/szooepidemicus/>. Los análisis de evolución filogenéticos y moleculares fueron generados usando el algoritmo Neighbor-Joining considerándose valores de *bootstrap* mayores a 50% (con 1000 repeticiones) mediante el software MEGA versión 6.

Resultados

Se obtuvieron 8 alelos *seM*, de los cuáles sólo uno estaba previamente publicado (*seM* 61). Los demás se denominaron aleatoriamente A, B, C, D y E, F y G. El alelo *seM* B fue el más frecuente seguido del *seM* 61 en aislamientos provenientes de enfermos y el *seM* 61 fue el más frecuente en los aislamientos de portadores.

Se realizó un árbol filogenético identificándose dos *clusters* (figura 1).

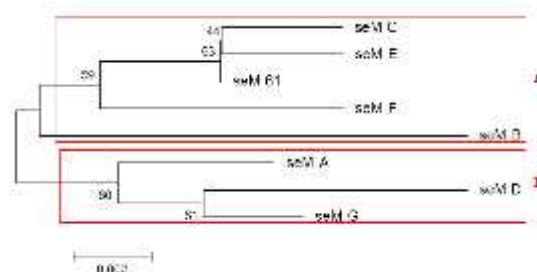


Figura 1: Árbol filogenético que muestra la agrupación de los alelos del gen *seM* en dos *clusters* (I y II) recuadrados en rojo. Se aplicó el algoritmo neighbor-joining considerando valores de *bootstrap* mayores a 50% (con 1000 repeticiones) mediante el software MEGA versión 6.

Discusión: Es interesante la identificación del mismo alelo en los aislamientos obtenidos de animales que enfermaron en un mismo brote, con excepción del producido en un establecimiento dedicado la cría de raza Polo en el que un potrillo presentó el alelo *seM* C y otro el *seM* D. Esto podría sugerir que se trataría de un brote producido por 2 cepas distintas como también lo sugieren los resultados de Kelly *et al.* (2006) que encontraron los alelos 12, 13 y 14 en un mismo brote. Debido al movimiento constante de animales, y el traslado de yeguas receptoras de un establecimiento a otro, una posible explicación es que más de un equino haya actuado como fuente de infección; ya sean portadores, animales en periodo de incubación o en convalecencia. Al comparar las secuencias del gen *seM* de los aislamientos de Buenos Aires con la base de datos mundial, se observa una alta similitud con aislamientos del sur de Brasil. Esto se asemeja a lo observado por Moloney *et al.* (2013) en cepas de Irlanda y Reino Unido, lo que indicaría una regionalización de cepas.

En el árbol filogenético (Fig. 1) se puede observar que en el *cluster* I se encuentran los dos alelos más frecuentes, sugiriéndose un origen común de ambos. También se puede ver que los alelos identificados en portadores (*seM* 61 y *seM* E) corresponden al *cluster* I, indicando que el *seM* E se originaría del *seM* 61. El alelo 61 fue el más frecuente en portadores como sucedió en Brasil (Libardoni, 2015) por lo que es posible que existan ciertos alelos más adaptados a la permanencia en nasofaringe.

Este constituye el primer reporte de tipificación molecular del gen *seM* de aislamientos argentinos de *S. equi*, produciendo información de las cepas locales circulantes y la epidemiología en nuestro medio.

Bibliografía: -Kelly C, Bugg M, Robinson C, Mitchell Z, Davis-Poynter N, Newton J, Jolley K, Maiden M, Waller A (2006). Sequence variation of the *SeM* gene of *Streptococcus equi* allows discrimination of the source of strangles outbreaks. *Journal of Clinical Microbiology*, 44(2): 480-486.

-Libardoni, F (2015). Equinos portadores de *Streptococcus equi* subespecie *equi*: prevalência, fatores de risco e caracterização de alelos *seM*. Tesis Doctoral, Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil.

-Lindahl S, Söderlund R, Frosth S, Pringle J, Båverud V, Aspán A (2011). Tracing outbreaks of *Streptococcus equi* infection (strangles) in horses using sequence variation in the *seM* gene and pulsed-field gel electrophoresis. *Veterinary Microbiology*, 153(1): 144-149.

-Moloney E, Kavanagh K, Buckley T, Cooney J (2013). Lineages of *Streptococcus equi* ssp. *equi* in the Irish equine industry. *Irish Veterinary Journal*, 66(1): 10.

B27- PRIMER REPORTE DE AISLAMIENTO DE *SALMONELLA* ODIEENNE EN VETERINARIA

MJ Gallardo^{1,5}, C Bustos^{1,3}, G Retamar¹, A Muñoz², A García Liñeiro², M. Herrera⁴, N Guida¹, P Chacana³, M Mesplet¹

¹Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Enfermedades Infecciosas. ² Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Clínica de Equinos. ³Instituto de Patobiología. CICV-INTA-Castelar. ⁴Dpto. de Salmonelosis, Bacteriología, DILAB-SENASA. ⁵Becario CIN. mmesplet@fvvet.uba.ar

Introducción

La salmonelosis afecta la salud de los equinos provocando grandes pérdidas económicas. *Salmonella* spp. es una bacteria Gram negativa de la cual existen más de dos mil serotipos, algunos de los cuales se han adaptado a una especie animal. Tal es el caso de *S. Abortusequi*, causante de abortos en los equinos. Otros serotipos como *S. Typhimurium* o *S. Newport* no son especie-específicos y pueden ser aislados de diversos animales, incluido el hombre. Estos serotipos son de gran importancia para la Salud Pública ya que los animales domésticos actúan como reservorio de este agente infeccioso que, en estos casos, es considerado zoonótico.

Según la información disponible, *Salmonella* Odienne fue aislada por primera vez en el año 1986 a partir de una muestra de origen humano en Costa de Marfil por el Instituto Pasteur de Francia, centro colaborador de la OMS para referencia e investigación en *Salmonella*. Posteriormente fue incluida en el suplemento del esquema de serotificación de Kauffmann-White en el mismo año (Le Minor 1987).

Este trabajo informa sobre el aislamiento de *Salmonella* Odienne a partir de muestras provenientes de un equino con un cuadro de abdomen agudo.

Materiales y Métodos

En febrero de 2016 ingresó al Hospital Escuela de Grandes Animales (FCV-UBA) un equino macho, castrado, con un cuadro de abdomen agudo de 8 días de evolución, que comenzó con coproestasis con curso de 3 días y luego diarrea. Previo a la internación, se le había realizado una punción abdominal, tacto rectal y una ecografía abdominal donde se observaron asas intestinales distendidas. El día de su ingreso el animal continuaba con diarrea y luego de dos días presentó signología respiratoria. La terapia inicial consistió en sondaje nasogástrico, hidratación endovenosa y se tomaron muestras de materia fecal para un examen coproparasitológico (que resultó negativo) y un hisopado rectal para cultivo bacteriológico para la detección de *Salmonella*. El animal fue tratado con antibióticos de amplio espectro, antiinflamatorios intestinales, más prebióticos y bacteriófagos, junto al tratamiento de sostén y fue externado luego de su recuperación al cabo de 15 días.

La muestra de materia fecal se incubó en caldo selenito por 24 hs a 37°C. Luego se cultivó en medio selectivo diferencial agar Xilosa-Lisina-Desoxicolato (XLD) a 37°C hasta evidenciar colonias sospechosas de *Salmonella* spp. (rosadas/rojizas con/sin centro negro de +/- 2 mm de diámetro). Al microscopio se observaron bacilos delgados Gram negativos. Estas colonias se aislaron en agar triptefina soja para realizar la caracterización bioquímica según se describe en Cowan and Steel's (2006) y su posterior serotipificación según Esquema de White-Kauffmann-Le Minor (2007).

Para la reacción de PCR, se amplificó una región específica de *Salmonella* spp. de 284 pares de bases del gen *invA*, el cual codifica para una proteína secretoria.

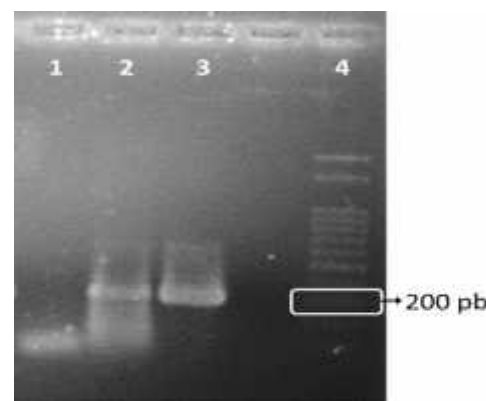
Se evaluó la susceptibilidad antibiótica de la cepa a través del método de difusión en placa según Kirby-Bauer siguiendo las recomendaciones del CLSI (2013). Se evaluaron los siguientes antibióticos: ciprofloxacina, ampicilina, TMS, azitromicina, cloranfenicol y cefotaxima.

Resultados

Se lograron aislar colonias sospechosas que fueron identificadas como *Salmonella* spp. con base en la caracterización bioquímica: SH₂ (+), indol (-), movilidad (+); RM/VP (+/-); TSI: lactosa (-), glucosa (+); citrato (+); LIA (+); ureasa (-) y fenilalanina (-). Además, se pudo confirmar el género utilizando Vitek (bioMérieux), que determinó *Salmonella* spp. en un 98%.

Mediante la técnica de PCR, se logró amplificar el fragmento específico, lo cual permitió confirmar la identificación del género *Salmonella* (Figura 1).

Figura 1. Electroforesis en gel de agarosa 1% de los fragmentos amplificados del gen *invA* teñidos con bromuro de etidio y visualizados con luz UV. En la calle 1 se observa el blanco de la reacción de PCR y en la calle 2 el control positivo. En la calle 3 se puede ver el producto amplificado a partir de la muestra y en la calle 4 el marcador de tamaño de ADN (100 pb, Genbiotech).



La serotipificación resultó en la fórmula antigénica 40:y:1,5 lo que determinó la identificación del aislamiento como *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ser. Odienne.

La cepa resultó sensible a la mayoría de los antibióticos testeados, observándose resistencia sólo a la azitromicina.

Discusión

Hasta nuestro conocimiento este es el primer reporte del aislamiento de *Salmonella* Odienne en medicina veterinaria, ya que el único aislamiento descrito en la literatura fue realizado en muestras procedentes de humanos hace varias décadas en el continente africano (Le Minor 1987 y 1989).

El hecho de que exista muy poca información sobre *S. Odienne*, puede deberse no sólo a que se trate de un serotipo poco común, sino también al hecho de que no todos los aislamientos son serotificados. Muchas veces la identificación de *Salmonella* spp. es suficiente para los objetivos del diagnóstico rutinario y no se realiza una investigación diagnóstica completa.

Son necesarios más estudios, para evaluar la patogenia y virulencia de este serotipo, el cual sería capaz de infectar tanto a los equinos como al hombre, y tal vez a otras especies domésticas, hecho que también tiene relevancia desde el punto de vista de la Salud Pública.

Bibliografía

- Cowan and Steel's (2006) Manual for the Identification of Medical Bacteria.
- Le Minor et J. Bockemuhl (1987). Supplément 1986 (n°30) au Schéma de Kauffmann-White.
- L. Le Minor et P.A.D. Grimont (1989). Origine et repartition en serovars des souches de *Salmonella* isolées en France Continentale au cours des années 1984- 1987.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (2013). Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Test for Bacteria Isolated from Animals, Approved Standards, Fourth Edition, VET 01-A4.
- White-Kauffmann-Le Minor (2007). Antigenic Formulae of the *Salmonella* serovars. 9th edition

Este trabajo fue financiado por el proyecto UBACyT 2002130100299BA.

B28- DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO Y MOLECULAR DE *SALMONELLA* ABORTUSEQUI DURANTE EL AÑO 2016

C Bustos^{1,2,3}, M Herrera⁴, A Vissani⁵, C Olguin Perglioni⁵, N Guida³, P Chacana²

¹Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), ²Área de Bacteriología, Instituto de Patobiología, CICVyA, INTA Castelar; ³Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Enfermedades Infecciosas; ⁴Dpto. de Salmonelosis, Bacteriología, DILAB-SENASA; ⁵Instituto de Virología, CICVyA, INTA Castelar bustos.carla@inta.gob.ar

Introducción

La salmonelosis equina está causada principalmente por *S. enterica* serovariedad Typhimurium con cuadros gastrointestinales de mayor prevalencia y gravedad en animales jóvenes (Sellon, 2007). Además de los cuadros digestivos, las hembras gestantes pueden infectarse con la serovariedad adaptada al equino: *Salmonella enterica* serovar Abortusequi (*Salmonella* Abortusequi). Se trata de una bacteria adaptada al huésped que produce abortos en yeguas y, si los animales no abortan, los neonatos pueden nacer infectados.

Entre 1948 y 1994, *Salmonella* Abortusequi fue aislada en Argentina produciendo brotes de abortos, patologías reproductivas en yeguas y potrillos con septicemia y poliartritis. Luego de no registrarse casos de salmonelosis reproductiva durante aproximadamente 17 años, a partir del año 2011 la enfermedad fue nuevamente diagnosticada en múltiples brotes en establecimientos dedicados a la producción equina (Di Gennaro, 2012; Moreira, 2012; Bustos, 2016).

El objetivo de este trabajo fue detectar *Salmonella* Abortusequi en muestras de fetos equinos abortados durante el año 2016.

Materiales y Métodos

Se trabajó con diferentes muestras como líquido estomacal, hígado, bazo y pulmón de 19 fetos equinos abortados en diferentes establecimientos.

Para la marcha bacteriológica, se sembraron las muestras en caldo tetratónico de sodio para enriquecimiento selectivo y posteriormente sobre placas de agar selectivo diferencial Xilosa, Lisina, Desoxicolato con el agregado de Tergitol 4 (XLDLT) y, además, las muestras se sembraron directamente en medio XLDLT. Luego de 24 h de incubación a 37°C, las colonias lactosa y SH₂ negativas sospechosas de *Salmonella* se reaislaron para su identificación. Para la identificación bioquímica se realizaron las pruebas de indol, movilidad, Voges Proskauer, Rojo Metilo, citrato de Simons, urea, crecimiento en medio agar triple azúcar hierro (TSI), reducción de nitratos y lisina, ornitina y arginina descarboxilasas. Además, se realizó la aglutinación rápida en placa con los sueros OS-A y OS-B. Para la técnica de PCR, se amplificó una región específica del gen *invA* que corresponde a un segmento de 284 pb (Bustos, 2016).

Luego de la confirmación del género *Salmonella* spp., se remitieron los aislamientos al Dpto. de Salmonelosis, Bacteriología, DILAB-SENASA para la serotipificación según el esquema de White-Kauffman-Le Minor.

Resultados

Se obtuvieron colonias lactosa y SH₂ negativas en pureza de todos los órganos provenientes de un mismo feto en los cultivos directos en XLDLT (Fig.1-A). Se identificó al aislamiento como *Salmonella* spp. (INTA-E8034/16) mediante las pruebas bioquímicas convencionales y por la amplificación de una banda de aproximadamente 290 pb correspondiente al gen *invA* (Fig.1-B). El aislamiento fue positivo a la aglutinación

con el suero polivalente OS-A y fue identificado como *Salmonella* Abortusequi con la fórmula antigénica 4,12:-:e,n,x.

Las muestras de los otros fetos resultaron negativas para *Salmonella* spp.

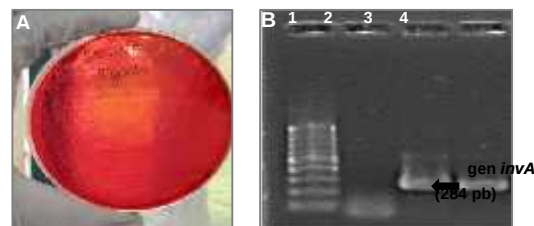


Figura 1 A: Colonias lactosa y SH₂ negativas en pureza del primocultivo de hígado de un feto equino en agar XLDLT. B: Electroforesis en gel de agarosa 1.5% del gen *invA*, línea 1: Marcador molecular 100 pb, línea 2: Control negativo, línea 3: Control positivo, línea 4: Cepa INTA-E8034/16.

Discusión

El aislamiento de *Salmonella* Abortusequi se obtuvo de un feto proveniente de un establecimiento con antecedentes de numerosos abortos por este agente en temporadas anteriores. Es interesante resaltar que se trató de un aborto aislado y que los animales del haras estaban vacunados con inmunógenos autólogos realizados con las cepas aisladas previamente. Hay que considerar que la aplicación de un correcto plan de inmunoprofilaxis que genere un adecuado nivel de protección poblacional es uno de los puntos claves para el manejo de esta patología reproductiva. Para esto, es imprescindible poder contar con vacunas comerciales formuladas con cepas circulantes en el país y que cumplan con la calidad necesaria para ser incluidas en un plan de control de este patógeno.

Por otro lado, desde su reaparición en el año 2011 hasta la actualidad, se han diagnosticado anualmente abortos paratíficos en Argentina (Di Gennaro, 2012; Moreira, 2012; Bustos, 2016) y, en consecuencia, se debe considerar a la Salmonelosis equina como una enfermedad emergente que siempre debe tenerse en cuenta ante patologías reproductivas.

Se propone continuar con el estudio genotípico de los aislamientos locales de *Salmonella* Abortusequi para una mejor comprensión de la epidemiología de la enfermedad en nuestro medio y la potencial optimización de los inmunógenos disponibles.

-Bustos CP, Gallardo J, G. Retamar G, Lanza N, Falzoni E, Caffer MI, Picos J, Muñoz A, Perez A, Moras EV, Mesplet M, Guida N. 2016. *Salmonella Enterica* serovar Abortusequi as an emergent pathogen causing equine Abortion In Argentina. X ICEID. Buenos Aires, Argentina. Journal of Equine Veterinary Science 39:S58-S59.

-Di Gennaro EE, Guida N, Franco P, Moras E, Muñoz A. 2012 Infectious abortion caused by *Salmonella enterica* subsp enterica serovar Abortusequi in Argentina. 9th ICEID. Lexington, Kentucky, USA. Journal of Equine Veterinary Science 32.

-Moreira A, Spath EJA, Alcain A, Campos J, Gual I, Malena R, Tessi A, Bruno S, Padin B, Roge A, Caffer MI. 2012. Brote de abortos en yeguas causados por *Salmonella enterica* serovariedad Abortusequi. Una enfermedad emergente?. XIX Reunión Científico-técnica. AAVLD. Buenos Aires, Argentina.

-Sellon DC, Maurer L. 2007. Equine infectious diseases. Ed. Elsevier.

B29- AISLAMIENTO Y CARACTERIZACION DE CEPAS DE *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS* EN ANIMALES

SILVESTRES.

J. S. Bucci¹; E. A. Redondo ^{1,2}; J. E. Dominguez ^{1,2}; M.F. Lois³; L.M. Redondo ^{1,2}; M.E. Fernandez-Miyakawa ^{1,2}.

¹Instituto de Patobiología, CICVyA - INTA. ² CONICET. ³ Fundación Temaikén. Email: redondo.leandro@inta.gob.ar

Introducción:

Clostridium perfringens es un importante patógeno intestinal, que se encuentra en diversos ambientes, incluyendo el sistema digestivo de humanos y animales, donde forma parte de la microbiota normal. La patogenia de este microorganismo se basa en la producción de potentes exotoxinas que poseen diferentes efectos intestinales y sistémicos. En base a la producción de 4 toxinas (alfa, beta, iota y épsilon) los aislamientos se agrupan en 5 toxinotipos (A, B, C, D y E). Mientras que numerosos trabajos describen la ocurrencia de casos de enfermedad digestiva de severidad variable en animales domésticos, los informes de aislamientos en animales exóticos son escasos.

En este trabajo se evaluó la presencia de *C. perfringens* en muestras de contenido intestinal o materia fecal de diferentes especies de animales exóticos que al momento de la toma de muestra presentaron cuadros compatibles con enfermedades asociadas a *C. perfringens*. El objetivo de este trabajo es determinar la importancia de esta bacteria en las enfermedades digestivas de estas especies.

Materiales y métodos:

Muestras: Se tomaron muestras de materia fecal o de contenido intestinal en animales presentes en la Fundación Temaikén de la provincia de Buenos Aires. En todos los casos los animales presentaron signos de enfermedad digestiva. En este análisis se incluyeron muestras de contenido de abomaso y diferentes porciones del intestino de 1 antílope Bongo (*Tragelaphus euryceros*) que presentó signos de cólico abdominal previos a la muerte; contenido de diferentes porciones del intestino de 1 antílope Gran Kudú, (*Tragelaphus strepsiceros*) sin signos previos a la muerte; contenido de diferentes porciones del intestino de 1 wallaby (*Macropus rufogriseus*); y contenido de diferentes porciones del intestino de 1 llama (*Lama glama*) que presentó signos de cólico abdominal previos a la muerte.

Bacteriología: Para el diagnóstico de anaerobios las muestras fueron sembradas en forma directa en placas de agar sangre con sangre bovina desfibrinada al 5% con y sin neomicina (100mg/L), en forma paralela se realizó enriquecimiento en caldo carne picada, estos medios fueron incubados en jarra de anaerobiosis a 37°C durante 18-24hrs. Las colonias compatibles fueron identificadas mediante tinción de Gram y pruebas bioquímicas.

Caracterización genotípica: Para determinar el toxinotipo de los aislamientos compatibles con *C. perfringens* se amplificaron mediante una PCR multiplex los genes de 6 toxinas (*cpa*, *cpe*, *cpb*, *cpb2*, *etx*, *iA*).

Resultados:

Antílope Bongo (*T. euryceros*): A partir de las muestras de abomaso y contenido de duodeno se obtuvo abundante crecimiento de colonias compatibles con *C. perfringens*. También

se obtuvieron aislamientos a partir de las muestras de colon, pero fue necesario realizar un pre-enriquecimiento. La identidad de estas cepas se confirmó mediante pruebas bioquímicas y moleculares.

Antílope Gran Kudú, (*T. strepsiceros*): No se obtuvieron aislamientos compatibles con *C. perfringens* a partir de las muestras analizadas.

Wallaby (*M. rufogriseus*): A partir de muestras de contenido de yeyuno se obtuvo abundante crecimiento de colonias compatibles con *C. perfringens* luego de un pre-enriquecimiento en caldo carne picada. La identidad de estas cepas se confirmó mediante pruebas bioquímicas y moleculares.

Llama (*L. glama*): A partir de las muestras de contenido de duodeno y ciego se obtuvo abundante crecimiento de colonias compatibles con *C. perfringens*. La identidad de estas cepas se confirmó mediante pruebas bioquímicas y moleculares.

Caracterización genotípica: las cepas obtenidas fueron tipificadas mediante PCR multiplex, todas las cepas obtenidas presentaron el genotipo *cpa+* correspondiente al toxinotipo A.

Discusión:

El presente trabajo describe el aislamiento de *C. perfringens* a partir de distintas muestras de sistema digestivo de animales exóticos que presentaron signos y hallazgos de necropsia compatibles con enfermedad digestiva asociada a esta bacteria. La detección bacteriológica de *C. perfringens* a partir de cultivo directo sin la necesidad de enriquecimientos previos, junto a la presencia de signos y lesiones compatibles sugiere que esta bacteria es capaz de producir enfermedad digestiva en especies de antílopes como la descrita aquí. En el caso de los aislamientos obtenidos luego de un enriquecimiento nuevos trabajos son necesarios para identificar la importancia de estos aislamientos en el desarrollo de una enfermedad digestiva.

Referencias:

1. Bravo P.W., Camelidae. IN: Miller E. and Fowler M.E. Zoo and Wild Animal Medicine., Volume 8. pp. 592-602
2. McClane B.A., Uzal F.A., Fernandez-Miyakawa M.E., et al.: 2004, The enterotoxigenic clostridia. 3rd ed. pp. 1-52. Springer-Verlag, New York, NY.
3. Sipos W., Fischer L., Schindler M. and Schmoll F. Genotyping of *Clostridium perfringens* Isolated from Domestic and Exotic Ruminants and Swine. J. Vet. Med. B 50, 360-362 (2003).
4. Vogelneust L., Marsupialia (Marsupials). IN: Miller E. and Fowler M.E. Zoo and Wild Animal Medicine., Volume 8. pp. 255-274.
5. Wolfe B., Bovidae (Except Sheep and Goats) and Antilocapridae. IN: Miller E. and Fowler M.E. Zoo and Wild Animal Medicine., Volume 8. pp. 626-645

B30- DETECCIÓN DE *BRACHYSPIRA* SPP. Y SU RELACIÓN CON LA PRODUCCIÓN DE HUEVOS EN GALLINAS PONEDORAS.

Basconi D., Illanes N, Gutierrez V., Romanini S., Cabral A., Bertone J., Yaciuk R., Pelliza B.
Departamento de Patología Animal. FAV. UNRC.
nillanes@ayv.unrc.edu.ar

INTRODUCCION

Dentro de los microorganismos productores de diarrea se encuentran las bacterias del género *Brachyspira*, espiroquetas intestinales anaerobias Gram negativas que colonizan el intestino grueso de diversas especies de animales. *Brachyspira intermedia*, *Brachyspira pilosicoli* y *Brachyspira alvinipulli* se consideran patógenas en pollos parilleros y gallinas ponedoras produciendo en esta especie la Espiroquetosis intestinal aviar (Hampson y Swayne, 2008). Esta enfermedad se caracteriza por producir diarrea en aves adultas, huevos sucios con materia fecal y mala calidad de la cáscara. En Argentina se ha informado la presencia de espiroquetas intestinales de este género en gallinas ponedoras pero aún no se ha demostrado su impacto a nivel productivo (Illanes *et.al.* 2016).

El objetivo del presente estudio fue determinar la presencia y el impacto que tiene *Brachyspira* spp. en los establecimientos de gallinas productoras de huevos de consumo.

MATERIALES Y METODO

Se trabajó con animales pertenecientes a un establecimiento de gallinas ponedoras de la Zona Rural de Río Cuarto. El mismo cuenta con 5 galpones de 10000 aves cada uno y a la consulta manifiesta la presencia de diarrea leve en gallinas de final de postura. Se tomaron muestras de materia fecal de 42 aves con diarrea. Cada animal fue individualizado y se recolectaron datos productivos tales como porcentaje de postura y características de los huevos (sucios con sangre, con materia fecal, sin cáscara, chicos). Los datos se recolectaron durante 9 días, no consecutivos. El estudio se realizó entre los meses de junio y julio de 2015.

Toma de muestras de materia fecal: Las muestras se recolectaron en bolsas de nylon y se enviaron refrigeradas a 4°C al laboratorio del Departamento de Patología Animal, FAV, UNRC. Para el aislamiento bacteriano se utilizó medio de cultivo agar base sangre con 8 % (v/v) de sangre equina defibrinada y el agregado de vancomicina (1,25 mg/ml), colistina (1,25 mg/ml) y espectinomina (0,4 mg/ml); se incubó en anaerobiosis (Anaerogen, Oxoid) a 40 °C durante 6-8 días. Las placas se consideraron positivas al aislamiento cuando se observó una pátina difusa con hemólisis débil. Para confirmar la presencia de microorganismos compatibles con espiroquetas se realizó una tinción de Gram. Los cultivos positivos fueron sembrados en agar base sangre sin antibióticos con el objetivo de purificar las cepas. La identificación de especie se realizó considerando el resultado de pruebas bioquímicas y fisiológicas: la

producción de indol, hidrólisis del hipurato y presencia de las enzimas α y β -glucosidasa y α -galactosidasa.

RESULTADOS

De 42 muestras de materia fecal de aves con diarrea, 28 resultaron con aislamientos positivos a *Brachyspira* spp. De esas 28 muestras, 27 se identificaron como *Brachyspira innocens* y solo 1 como *Brachyspira pilosicoli* mediante pruebas de identificación bioquímica. En ninguna de las aves positivas a *Brachyspira* spp. se evidenció la disminución del porcentaje de postura. No se encontró asociación entre la presencia de *Brachyspira* y el porcentaje de huevos manchados con materia fecal. Por el contrario si se encontró una prevalencia del 4,6% de huevos sin cáscara en las aves con diarrea. En el grupo negativo esta prevalencia es nula. Las aves positivas a *B. innocens* (27) mostraron porcentajes de postura superiores con respecto a las negativas a este género.

DISCUSION

En el presente estudio se tomaron muestras de 42 aves, de las cuales 28 (66%) resultaron positivas a *Brachyspira* spp. Estos resultados difieren con otros autores (Alvarez, 2009) quienes informan porcentajes de aislamiento del 6,2% en gallinas ponedoras criadas a piso. No se encontraron signos de disminución de postura ni aumento de huevos manchados con diarrea lo que probablemente se relacione al agregado de antibióticos en la dieta. (Jansson *et al.*, 2008; Alvarez *et al.*, 2009). Por el contrario, se evidencia la aparición de calcificación deficiente de la cáscara del huevo tal como se informa en otros estudios (Jansson *et al.*, 2008). *B. innocens* se conoce como apatógena para aves y otras especies. En este estudio se encontró que, si bien aparece en la materia fecal de aves con diarrea, no interfiere con el porcentaje de postura. Esto podría deberse al efecto protector que tendría este microorganismo frente a otras bacterias patógenas de este género.

Este estudio demuestra la presencia de bacterias del género *Brachyspira* spp. en establecimientos avícolas de la región. Se necesitan más estudios para determinar el impacto que podrían tener a nivel sanitario y productivo

BIBLIOGRAFIA

Alvarez.(2009). Tesis doctoral. U.N de Colombia
Illanes, *et.al.* (2016) Rev. Arg.Mic.48:67-70.
Hampsony Swayne. (2008). Aust. Pig. Sc. Asoc.139-169.
Jansson, *et.al.* (2008).Vet. Mic. 130:348-362.

B31- PUESTA A PUNTO DE UNA PCR PARA EL DIAGNOSTICO DE LA LANA SISAL EN OVINOS MERINO DE LA PATAGONIA

A M Abdala,¹ L Álvarez,¹ M Faber,² C Robles,³

¹ Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), CONICET, Bariloche abdala.alejandra@inta.gob.ar; ² INTA, CONICET, Buenos Aires; ³ Grupo de Salud Animal, INTA EEA Bariloche, CC: 277, Bariloche, Argentina.

Introducción

La Lana Sisal es una dermatitis infecciosa de etiología incierta que afecta a los ovinos de la raza Merino de la Patagonia. Clínicamente se caracteriza por la presencia de manchones oscuros y deprimidos en el vellón, que contienen un exceso de grasa y fibras aglutinadas¹. En Sudáfrica se ha descrito y reproducido experimentalmente una enfermedad similar

partir de hisopados de piel una bacteria corineforme, que no ha sido posible identificar con certeza mediante las técnicas bacteriológicas de rutina, pero que por identificación bioquímica tradicional se estima podría corresponder a *Corynebacterium bovis* (*C. bovis*)², bacteria involucrada en mastitis bovina. El objeto de este trabajo fue la puesta a punto de una técnica para la identificación rápida y específica de los aislamientos bacterianos obtenidos de ovinos con Lana Sisal.

Metodología

Se trabajó con un total de 18 aislamientos bacterianos provenientes de 18 animales afectados de Lana Sisal. Para su identificación, se secuenciaron 1393pb del gen de la subunidad 16S del ARNr de cuatro aislamientos y se asignó la especie comparando contra la base de datos GeneBank utilizando Blast (98% de similitud de secuencia). Mediante un análisis filogenético utilizando el método de máxima verosimilitud se compararon las 4 secuencias incluyendo las secuencias de la cepa de referencia de *C. bovis* aislada de bovinos (DSM 20582 y de *C. jeikeium* y *C. urealyticum*, por ser las especies más cercanas a *C. bovis*. En base a esta identificación y para analizar el total de los 18 aislamientos de ovinos, se puso a punto una PCR específica para *C. bovis*, que amplifica una región de 224pb también del 16S ARNr (modificada de Duga y col., 1998⁴). A su vez se incluyeron en el análisis 3 aislamientos de *Corynebacterium spp.* obtenidos de muestras de leche de bovinos con mastitis (Laboratorio LactoDiagnóstico Sur). Para determinar la especificidad de la PCR se utilizó como control ADN de *C. pseudotuberculosis*, *C. renale*, *C. urealyticum*, *C. jeikeium* y *Tuerperella pyogenes* (ex *C. pyogenes*). Se determinó el límite de detección de la técnica diagnóstica, utilizando como templado diluciones seriadas al décimo de ADN de uno de los aislamientos de ovinos.

Resultados

Se estableció que la bacteria aislada de animales con lesiones de Lana Sisal corresponde a la especie *Corynebacterium bovis* (*C. bovis*). El alineamiento múltiple de las secuencias no reveló polimorfismos de nucleótido único (SNPs) consistentes que diferencien las 4 cepas ovinas de la cepa bovina de referencia de esta especie, aislada de bovinos con mastitis. Al realizar el análisis filogenético (Fig. 1), todas las cepas aisladas de casos clínicos de Lana Sisal se agruparon en un *cluster* que contiene a la cepa de referencia de *C. bovis*. Este grupo se separa claramente de las cepas del grupo de *C. urealyticum* (Bootstrap value 100).

La PCR utilizada arrojó resultados positivos sobre el ADN extraído del total de los 18 aislamientos de casos clínicos de Lana Sisal. Los aislamientos de *Corynebacterium spp.* de leche bovina también resultaron positivos a la PCR diagnóstica. La especificidad de la técnica (Fig. 2) se comprobó mediante el resultado negativo a la amplificación de ADN de otras especies de corinebacterias. El límite de detección de esta PCR es de 0,01 ng/μl.

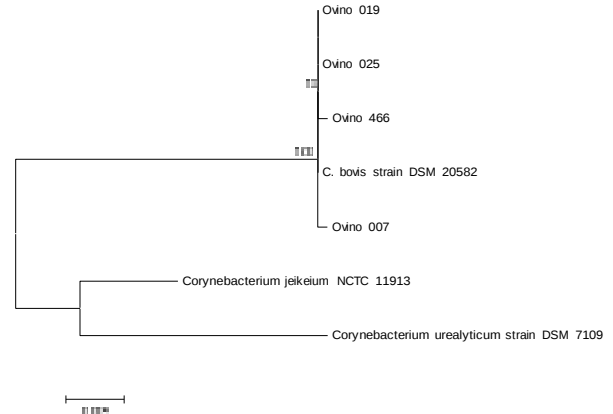


Fig 1: Árbol filogenético obtenido por método de máxima verosimilitud del alineamiento múltiple de las secuencias del gen 16S ARNr de cada bacteria indicada.

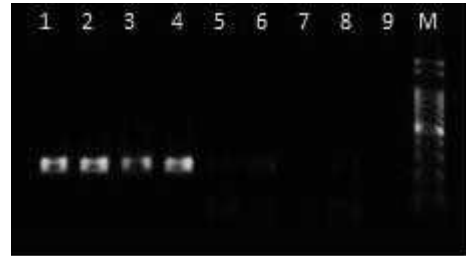


Fig. 2: Productos de PCR en gel de agarosa teñidos con Gel Red utilizando como templado ADN de: 1 y 2: cepas de ovinos, 3 y 4: cepas de bovinos, 5: *C. pseudotuberculosis*, 6: *C. renale*, 7: *C. freneyi*, 8: *T. pyogenes*, 9: control negativo, M: Marker.

Conclusión

El análisis genético de los aislamientos obtenidos de lesiones de Lana Sisal, permitió identificarlos fehacientemente como *C. bovis* siendo el primer reporte del aislamiento de esta especie en ovinos. En el gen analizado no se detectaron diferencias con la cepa de referencia de *C. bovis* aislada de bovinos, lo que no descarta diferencias genéticas en otras regiones del genoma. La PCR puesta a punto permite realizar la identificación de aislamientos de *C. bovis* provenientes de muestras tanto de ovinos como de bovinos. Esta herramienta podría reemplazar a la identificación tradicional mediante pruebas bioquímicas que para corinebacterias es dificultosa, en general no permite arribar a una clasificación certera y requiere varios días de trabajo⁵.

Bibliografía

- 1 – Robles, C. South America: Patagonia. In: Diseases of sheep, Ed. I. D. Aitken, Blackwell Publishing, UK, 2007:610.
- 2 – Marcellino, R.; Robles, C. XX Reunión de la AAVLD. San Miguel de Tucumán, Tucumán, Argentina. 2014. Pág. 8.
- 3 – Joubert, JP, Henton, MM, Whitehead, CJ, Kellerman, GE. - J S Afr Vet Assoc, 1995, 66 (4): 222-229.
- 4 – Duga S, Gobbi A, Asselta R, Crippa L, Tenchini ML, Simonc T, Scanziani E. Mol Cell Probes - 1998, 12 (4): 191-199.
- 5 – Funke, G, Von Graevenitz, A, Clarridge, JE, Bernard, K A. Clin Microbiol Rev, 1997, 10 (1): 125-159.

B32- PROTOCOLO DE PASTEURIZACIÓN DE CALOSTRO COMO INICIO DEL SANEAMIENTO EN EL RODEO LECHERO

A.M Dodero.^{1*}, G.Gutierrez,² G.M Martinez.³, M Chávez.³

¹Area de Sanidad Animal INTA-IIACS-CIAP ²INTA CICVyA ³INTA EEA Salta

*E-mail: dodero.ana@inta.gob.ar

INTRODUCCIÓN

La cuenca lechera del Valle de Lerma, Salta posee serios problemas sanitarios, ningún tambo es libre de leucosis, muchos poseen *Brucella* e incluso más de ¼ está afectado por *Micobacterium*. La mortalidad en vacas adultas es 13%, el descarte 12,3% y la reposición anual llega a 25%. La etapa de guachera posee una mortalidad del 23% debida a diarreas y a fallas en la transferencia de la inmunidad pasiva^{1,2}. Gran parte de las enfermedades mencionadas, se transmiten por calostro infectado, contaminado, insuficiente o de mala calidad. La sanidad del rodeo podría ser mejorada actuando sobre la etapa inicial, brindando a los terneros un calostro sanitizado con un método que no altere su elemento principal, "las inmunoglobulinas"^{3, 4}. Este trabajo propone una técnica de pasteurización de calostro que permita la prevención del contagio de enfermedades transmitidas por vía galactógena, usando para su evaluación indicadores de higiene y perfil nitrogenado.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en el laboratorio de Sanidad Animal del IIACS-CIAP (EEA Salta) con calostro de animales individuales del banco de un tambo comercial. Consistió en la comparación de calostro de alta calidad (mayor a 1.050g/l de IgG) del primer ordeño postparto³. Las muestras se conservaron a -20°C, se descongelaron en baño térmico a 50°C y luego se pasteurizaron volúmenes de 500 ml en equipo del tipo Batch a diferentes temperaturas (56, 58, 59 y 60°C) y tiempos (30, 35 y 40 minutos). Se realizaron mediciones iniciales y finales de: densidad con calostrímetro, coagulación en placa cada 5 minutos (min) y fosfatasa alcalina (FA) para estimar la eficiencia del tratamiento térmico (TT). En una segunda etapa con el protocolo establecido por las anteriores pruebas, se repitió con volúmenes mayores de calostro (2 a 4 l), evaluando también recuentos de mesófilos y coliformes estimando su efectividad como porcentaje en la reducción del recuento). También se midieron proteínas totales, fracciones y nitrógeno no proteico (nnp) con el método de Kjeldahl. Los resultados fueron analizados con el test no paramétrico para comparación de medias en muestras dependientes, prueba de Wilcoxon (test a dos colas 5% a y 5000 permutaciones), con la versión libre del paquete estadístico Infostat⁵.

RESULTADOS

La prueba de coagulación fue positiva luego de 15 min del TT en las muestras con más de 48hs de refrigeración. La FA, indicadora de la eficiencia del TT, mostró que a 56°C la enzima es activa aún con 40 min de TT. A 58°C se inactivó entre 30 y 35 min, mientras que a 59°C, lo hizo luego de 5 min al igual que a 60°C. La densidad se incrementó levemente luego del TT entre 1 y 1,5 g/l en algunos casos.

El resumen de los recuentos de mesófilos y coliformes para este protocolo se presenta en la tabla 1.

Tabla 1: Recuento promedio de mesófilos y coliformes inicial, final (número de colonias por ml) y % de efectividad de la pasteurización.

Recuento de	Inicial	Final	Efectividad
Mesófilos	9000x10 ³	5,2x10 ³	97%
Coliformes	37,5x10 ³	0	100%

El resumen de las fracciones proteicas para este protocolo se presenta en la tabla 2.

Tabla 2: Muestra, nitrógeno total, proteína total, nitrógeno soluble, nnp, proteína verdadera, proteína de suero, relación nnp/nitrógeno total.

Muestra	NT	PT ¹	N Sol. ¹	Nnp. ¹	PV. ¹	PS ¹	nnp/nt
Inicial 1	2,38	15,18	1,41	0,073	14,72	8,53	3,07
Inicial 2	2,33	14,87	1,40	0,058	14,50	8,56	2,49
Inicial 3	2,59	16,52	1,63	0,090	15,95	9,83	3,47
Inicial 4	2,59	16,52	1,63	0,090	15,95	9,83	3,47
Final 1	2,34	14,93	1,25	0,067	14,50	7,55	2,86
Final 2	2,26	14,42	1,21	0,081	13,90	7,20	3,58
Final 3	2,69	17,16	1,40	0,073	16,70	8,47	2,71
Final 4	2,84	18,12	1,68	0,074	17,65	10,25	2,61

¹ %p/p

DISCUSIÓN

La prueba de coagulación indicaría que el calostro refrigerado debería conservarse menos de 48hs y que el incremento de la densidad se debería a una incipiente coagulación de fracciones proteicas del fluido. La inactivación térmica se produciría a más de 56°C, en consiguiente se eligió como protocolo de pasteurización el de 59°C por 35 min debido a que la pasteurización alta, la tradicional e incluso temperaturas superiores a los 60°C disminuyen en forma importante la actividad de las inmunoglobulinas, según reportes previos^{3,4}. Entre los recuentos de mesófilos iniciales y finales, las diferencias fueron significativas debidas al TT, mientras que no las hubo entre el recuento de coliformes inicial y final posiblemente debido a que el recuento inicial de coliformes fue muy bajo presentándose sólo en una de las muestras. En el caso de las proteínas y sus fracciones, no hubo diferencias significativas entre ninguna de las fracciones iniciales y finales debido al TT.

Los resultados indican que la pasteurización de calostro de alta calidad a 59°C 35 min es efectiva y no modifica significativamente sus fracciones proteicas. Lográndose un protocolo para el pasteurizado de calostro con preservación del perfil nitrogenado y contribución al saneamiento del mismo.

BIBLIOGRAFÍA

- Suarez, V.H., Micheloud, J.F., Martínez, G.M., Bertoni, E.A. y Neumann, R.D. (2015) Presencia de enfermedades y problemas sanitarios en los tambos del Valle de Lerma, Salta. Revista Argentina de Producción Animal Supl. 1: 63-82
- Martínez, G.M., Bertoni, E.A. y Suarez, V.H. Caracterización de la cría de terneros de los tambos del Valle de Lerma, Salta. (2015) Revista Argentina de Producción Animal Supl. 1: 83-136.
- Elizondo-Salazar J.A. (2007) Alimentación y manejo del calostro en el ganado de leche. Agronomía Mesoamericana 18(2): 271-281
- Godden, S.M., Wells, S. Donahue, M. Stabel, J. Oakes, J.M. Sreevatsan, S. and Fetrow J. (2015) Effect of feeding heat-treated colostrum on risk for infection with *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis*, milk production, and longevity in Holstein dairy cows. J. Dairy Sci. 98:1-12.
- Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. InfoStat versión 2014. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>

Agradecimientos

Al grupo de Agroalimentos de la EEA Salta, Jose y Emilio Alfaro, a Ramón Miraval y a Julian González Adam, que sin su colaboración este ensayo no hubiera sido posible.

B33- TIPIFICACIÓN BACTERIOLÓGICA Y BIOQUÍMICA DE AISLAMIENTOS DE *BRUCELLA MELITENSIS* PROVENIENTES DE LA PROVINCIA DE SAN LUIS.

M Arregui¹; MG Delgado²; M Navarro²; M Rodríguez²; L Samartino¹

¹Instituto de Patobiología. Centro de Investigaciones en Ciencias Veterinarias y Agronómicas. INTA Castelar

²Programa de Producción Agropecuaria y Arraigo Rural (PAyAR). M de MA, Campo y Producción. Gobierno de San Luis.

Email: arregui.matias@inta.gob.ar

Introducción: La brucelosis causada por *Brucella melitensis* es una enfermedad infecciosa de amplia distribución mundial que afecta principalmente a caprinos, considerado su hospedador natural, y también a ovinos. La enfermedad es transmitida al hombre, por lo que constituye una de las zoonosis de mayor interés veterinario y de salud pública. La provincia de San Luis, se caracteriza por su condición de endémica, con respecto a esta enfermedad. Su prevalencia se encuentra en el orden de baja a media, de acuerdo a las regiones dentro de la misma provincia, y lógicamente, de acuerdo al tipo de explotación ganadera predominante.

El Gobierno de la Provincia de San Luis se encuentra ejecutando actualmente un Plan de Control de la brucelosis caprina, que comprende el muestreo exhaustivo de animales susceptibles. Es de destacar la modalidad de eliminación de los animales enfermos, y su reposición por animales sanitariamente aptos.

El objetivo de este trabajo fue la obtención de cepas de *Brucella melitensis* y tipificarlas, como punto de partida para un futuro análisis epidemiológico completo de brucelosis caprina en la provincia de San Luis.

Materiales y métodos: De acuerdo a la metodología del Plan de Control de la brucelosis caprina de la provincia de San Luis, se tomaron muestras de tejidos para bacteriología de aquellos animales que fueron positivos a la técnica de fijación de complemento (punto de corte de 20 Unidades internacionales Fijadoras de Complemento), y cuyo destino final era el sacrificio.

Se trabajó sobre un total del 20 caprinos y 2 ovinos, contabilizando un total de 62 muestras de tejidos.

Los tejidos seleccionados para ser muestreados fueron linfonodos inguinales, bazo, hígado, contenido estomacal en caso de abortos, testículo-epidídimo y leche. Las muestras fueron conservadas en frío hasta su procesamiento.

Se realizó la siembra de los tejidos en caldo *Brucella* a 37°C, y se efectuaron repiques cada 24 horas en Agar *Brucella* adicionado con una combinación de antibióticos a modo de inhibir el crecimiento de bacterias contaminantes.

Fue utilizado el suplemento selectivo de *Brucella* (OXOID®). El mismo contiene polimixina B, bacitracina, cicloheximida, ácido nalidíxico, nistatina y vancomicina.

Los crecimientos de colonias compatibles con *Brucella spp.* fueron sembradas en agar triptosa, se utilizó tinción de Gram y posteriormente se resembraron en medios adicionados con fucsina y tionina a diferentes concentraciones (1/25000, 1/50000 y 1/100000) y en simultáneo se ejecutaron test de catalasa, test de oxidasa, producción de ácido sulfhídrico y actividad ureasa.

En un último paso se procedió a la aglutinación con sueros monoespecíficos A y M.

Resultados: A pesar del número de muestras procesadas, se obtuvieron solo 3 aislamientos de *Brucella melitensis* biotipo 1. El tejido del cual partieron estos aislamientos fue testículo en uno de los casos, y linfonódulos en los restantes dos, a las 72 horas de la primera siembra. Las características fenotípicas a partir de las cuales se arribó a la tipificación fueron la presencia de colonias pequeñas, como "gotas de rocío", blanco nacaradas, constituidas por cocobacilos Gram (-), sin requerimientos de CO₂ para su crecimiento, catalasa y oxidasa (+), nula producción de ácido sulfhídrico, creciendo las mismas en todos los medios con inclusión de fucsina y tionina (en todas sus concentraciones) y así mismo, presencia de una marcada actividad ureasa.

Los aislamientos mostraron aglutinación con suero monoespecíficos M, pero no con A.

Conclusiones: A pesar de las importantes pruebas diagnósticas serológicas, las cuales llegan a obtener valores de especificidad del 99%, el aislamiento del agente sigue siendo la "prueba de oro" al momento del diagnóstico de enfermedades infecciosas.

Los largos tiempos de latencia hasta obtener crecimiento bacteriano, las dificultades y los contaminantes, hacen lógicamente inviable la utilización rutinaria de estos métodos.

De vital importancia es la obtención de aislamientos, dadas las características de la enfermedad y la necesidad de un profundo análisis de la situación epidemiológica, haciendo énfasis en este caso en la provincia de San Luis.

B34- IDENTIFICACION DE BACTERIAS DE RIESGO ZONÓTICO DEL ORDEN RICKETTSIALES A PARTIR DE GARRAPATAS RHIPICEPHALUS SANGUINEUS S.L. EN BUENOS AIRES

EC Guillemi¹, S de la Fourniere¹, M Martínez Vivot², F Fernandez², MD Farber¹. guillemi.eliana@inta.gob.ar

- ¹ Inst. de Biotecnología, INTA Castelar, Buenos Aires, Argentina- Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad de Buenos Aires. Argentina.

Introducción

El concepto “un mundo, una salud” pone en relevancia la importancia del vínculo existente entre las enfermedades animales y la salud pública. Se sabe que el 75% de las enfermedades humanas emergentes son de origen animal. Entre los factores determinantes de la emergencia de nuevas enfermedades se encuentran el cambio climático, el mayor movimiento de personas por medio de los viajes y el comercio y las condiciones de vulnerabilidad socio-económica junto con la infraestructura sanitaria deficiente (FAO. 2013).

El orden *Rickettsiales* comprende organismos coco-bacilares Gram-negativos que se hallan organizados en dos familias: *Rickettsiaceae* y *Anaplasmataceae* y algunos de los géneros que las comprenden (*Rickettsia*, *Ehrlichia* y *Anaplasma*) son transmitidos por garrapatas. En nuestro país, las enfermedades producidas por bacterias del orden *Rickettsiales* constituyen enfermedades emergentes ya que en los últimos años se han reportado casos en pacientes humanos principalmente en las regiones del norte argentino e incluso en la región del Delta del Paraná, en la provincia de Buenos Aires (Seijo y col. 2007). Además, algunos de los patógenos que implican un riesgo zoonótico han sido identificados en diversas especies de garrapatas y en animales en estrecho contacto con el humano en las regiones norte y centro del país. Si bien existen algunos reportes en los que se han identificado bacterias del orden *rickettsiales* en la garrapata común del perro *Rhipicephalus sanguineus* s.l., aún es necesario aportar información acerca de la circulación de estos patógenos. La presencia de *rickettsiales* en *R. sanguineus* s.l. representa un riesgo para la salud pública ya que además de ser la garrapata más frecuentemente hallada en caninos domésticos, se ha verificado que todos los estadios de este vector pueden parasitar al humano. Las *Rickettsiosis* se presentan en las personas como episodios febriles acompañados de un conjunto de signos clínicos poco específicos pero que, en muchos casos, comprometen la vida de los pacientes. El objetivo del presente trabajo consistió en realizar la detección de patógenos del orden *Rickettsiales* en garrapatas *R. sanguineus* s.l. colectadas de perros en la Ciudad Autónoma de Bs.As (CABA) y la provincia de Bs. As.

Materiales y Métodos

Se recolectaron garrapatas de la especie *R. sanguineus* s.l. provenientes de caninos que asistieron a centros de salud por diversos motivos durante los meses de octubre, noviembre y diciembre del 2014. Las muestras fueron recolectadas en la provincia de Buenos Aires (Centro de zoonosis de Morón y una veterinaria en San Andrés de Giles -SAG-) y en la CABA (Villa Soldati, en el marco del proyecto “Un Mundo una Salud, Prácticas Pre-Profesionales Solidarias en áreas de riesgo sanitario de Villa Soldati). Todas las garrapatas recolectadas fueron conservadas en etanol 70% para su posterior identificación taxonómica según las claves disponibles. Para la extracción de ADN se procedió a pulverizar las garrapatas con nitrógeno líquido y luego se aplicó el método de fenol-cloroformo. La identificación y correcta clasificación de las bacterias del orden *Rickettsiales* se llevó adelante aplicando diferentes protocolos de PCR. Para la identificación de la familia *Rickettsiaceae* se amplificaron los genes *gltA* y *ompA* específicos del género *Rickettsia* (Roux, y col. 1996), en cambio, la familia *Anaplasmataceae* fue identificada amplificando un fragmento del gen *16S rRNA* (Bekker y col. 2002) que permite identificar tanto al género *Ehrlichia* como *Anaplasma*. Las reacciones positivas al gen *ompA* y *16S rRNA* fueron

purificadas y enviadas a secuenciar para la correcta identificación de género y especie.

Resultados

Se analizaron un total de 55 garrapatas que fueron identificadas como *R. sanguineus* s.l. De éstas, 24 provenían de la CABA (20 hembras y 4 machos), 23 del partido de Morón (18 hembras y 5 machos) y 8 de SAG (hembras). Se identificaron 26 garrapatas positivas a alguno de los patógenos estudiados, siendo 7 positivas al género *Rickettsia* (6 de CABA y 1 de SAG) y 21 positivas al *16S rRNA* de *Ehrlichia*/*Anaplasma* (7 de CABA, 10 de Morón y 4 de SAG). Con las secuencias de los genes *ompA* y *16S rRNA* de aquellas muestras positivas y utilizando la herramienta BLAST, se compararon los archivos en formato FASTA contra las bases de datos GenBank del NCBI (National Center for Biotechnology Information). Para el gen *ompA* se obtuvo un 100% de identidad con las secuencias correspondientes a *Rickettsia massiliae*, mientras que el fragmento amplificado del *16S rRNA* resultó en todos los casos entre un 90 a un 99 % similar a las secuencias de *Anaplasma platys* depositadas en el NCBI.

Discusión

Tanto *R. massiliae* como *A. platys* fueron recientemente consideradas patógenos de riesgo para la salud humana. Si bien *R. sanguineus* s.l. presenta preferencia para alimentarse de caninos, puede ocasionalmente parasitar humanos. Recientemente se reportó un caso de *R. massiliae* en una mujer residente de Buenos Aires que había estado sacando manualmente las garrapatas a su perro (García-García y col., 2010). Estos hechos son relevantes ya que en los lugares donde fueron colectadas las muestras es habitual el estrecho contacto entre los perros y el humano, la densidad de la población canina es alta y las condiciones sanitarias son propicias para la transmisión zoonótica de este tipo de enfermedades. Por otra parte, los signos clínicos asociados a estos patógenos son muchas veces confundidos con otras etiologías, de manera que resulta sumamente importante informar a la comunidad médica acerca del riesgo de *rickettsiosis* en zonas urbanizadas.

Bibliografía consultada

- FAO. 2013. World Livestock 2013.
Seijo y col. 2007. Fiebre manchada por rickettsias en el delta del Paraná: una enfermedad emergente. Medicina (B Aires) 67:723 – 726.
Roux, y col. 1996. Identification of the spotted fever group rickettsiae by sequencing and analysis of restriction fragment length polymorphism of PCR-amplified DNA of the gene encoding the protein rOmpA. J. Clin. Microbiol. 34:2058-2065.
Bekker y col. 2002. Simultaneous detection of *Anaplasma* and *Ehrlichia* species in ruminants and detection of *Ehrlichia ruminantium* in *Amblyomma variegatum* ticks by reverse line blot hybridization. Vet Microbiol. 89(2-3):223-38.
García-García y col. 2010. A patient from Argentina infected with *Rickettsia massiliae*. Am J Trop Med Hyg. 82(4):691-2.

B35- MICOBACTERIOSIS: REPORTE DE DOS SCHNAUZER MINIATURA CON *MYCOBACTERIUM AVIUM* SUBESP. *HOMINISSUIS* Y UN GATO COMÚN EUROPEO CON *MYCOBACTERIUM BOVIS*

S.Barandiaran¹, E. Falzoni¹, J. Marfil², B. Campos², M. Zumárraga², G. Pérez Tort³, A. Fiorentino³, M. Rossano¹, M. Martínez Vivot¹

¹Laboratorio de Enfermedades Infecciosas, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires. ²Instituto de Biotecnología, CICVyA-INTA, Castelar. ³Actividad privada. sbaran@fvet.uba.ar

Introducción: La tuberculosis (TB) es una enfermedad infecciosa crónica que afecta a animales domésticos, silvestres y al hombre. Los animales de compañía, principalmente el perro y el gato son susceptibles a las infecciones causadas por diferentes micobacterias, conocidas como micobacteriosis. En la Argentina, las micobacteriosis sistémicas en los felinos están asociadas principalmente al *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*), por la convivencia que estos pueden tener con los bovinos o por los hábitos culturales de alimentar a los gatos con leche y vísceras crudas (pulmón / hígado). Generalmente se presenta con formación de lesiones granulomatosas internas que son típicamente órgano-específicas y con una signología inespecífica que consiste en pérdida de peso, anorexia y fiebre.

Si bien los perros pueden infectarse con micobacterias, no es una enfermedad frecuente y su aparición dependerá de su hábitat (urbano o rural) y de su epidemiología. Si bien los caninos pueden infectarse por micobacterias no tuberculosas (MNT) se los clasifica como relativamente resistentes a la enfermedad por *Mycobacterium avium*. Sin embargo, existen reportes esporádicos que describen casos con signos inespecíficos que a la necropsia revelan lesiones granulomatosas en diversos órganos incluyendo linfadenopatía generalizada. La fuente de infección de las MNT es el medio ambiente o el contacto directo con animales infectados. El diagnóstico de la enfermedad en perros y gatos no es sencillo. En las primeras fases puede cursar de manera asintomática, aún en animales con lesiones extensas. Cuando presentan signos clínicos son normalmente inespecíficos así como también los cambios hematológicos y bioquímicos. Se sospecha de TB en los pacientes con signología compatible con enfermedad crónica: desnutridos, anoréxicos, con signos digestivos o respiratorios, adenopatías superficiales, o úlceras cutáneas; que en la necropsia evidencien granulomas en distintos órganos. Por lo tanto el correcto diagnóstico se basa en una buena anamnesis, en el diagnóstico histopatológico del tejido afectado, la realización de la coloración de Ziehl Neelsen (ZN) y la confirmación del agente etiológico mediante cultivo bacteriológico y molecular. El **objetivo** de este trabajo es reportar los casos de micobacteriosis en animales de compañía remitidos al laboratorio de diagnóstico de la Cátedra de Enfermedades Infecciosas de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UBA, y establecer su caracterización molecular.

Materiales y métodos: Se analizaron dos casos de perros schnauzer miniatura (de 2 y 3 años de edad) y uno de un gato raza indefinida (de 10 años), con signología inespecífica compatible con una enfermedad crónica consuntiva. Los pacientes evidenciaron, en su mayoría, una clínica similar: anorexia, decaimiento, mucosas anémicas, aumento de tamaño de los linfonódulos superficiales e internos, en algunos casos diarrea, vómitos, hipertermia. Ambos caninos tenían un diagnóstico presuntivo de linfoma. Se realizaron punciones con aguja fina (PAF) de linfonódulos y se colorearon con ZN; posteriormente a la eutanasia se realizaron necropsias y se tomaron diferentes muestras de linfonódulos y lesiones granulomatosas. Las muestras fueron procesadas para bacteriología, decontaminadas por el método de Petroff y sembradas en los medios de Stonebrink y Lowenstein Jensen a 37°C. Los cultivos fueron observados durante 8 semanas y las colonias desarrolladas se tiñeron con la técnica de ZN para la observación de bacilos ácido alcohol resistente (BAAR). Para la identificación molecular se amplificaron la secuencia de inserción IS6110 presente en el complejo *Mycobacterium tuberculosis* al cual pertenece *M. bovis* y la secuencia IS1245 presente en el

en el complejo *Mycobacterium avium*. Para caracterizar las cepas e identificar la especie *M. bovis* y subespecie de *M. avium* se realizaron la técnica de Spoligotyping y la amplificación de la secuencia IS901 respectivamente.

Resultados: Las PAF de linfonódulos realizadas a los caninos evidenciaron la presencia de BAAR. Las cepas de las muestras provenientes de los caninos se identificaron como *Mycobacterium avium* subesp. *hominissuis* (MAH) (IS1245+IS901-), mientras que la muestra proveniente del felino se identificó como *M. bovis* (IS6110+, patrón de spoligotyping característico).

Discusión: La tuberculosis en los animales de compañía puede presentarse como una enfermedad subclínica que ante factores de estrés, como la inmunosupresión y la gestación, puede manifestar signos clínicos relacionados con la localización de las lesiones. La confirmación del cuadro mediante la combinación de métodos bacteriológicos y moleculares permite la identificación de la micobacteria actuante. Esto resulta de suma importancia ya que las implicancias en la salud pública varían según la especie involucrada en el caso; mientras que la genotipificación contribuye al conocimiento de la posible fuente de infección y cadena epidemiológica de la transmisión del microorganismo. Estos dos nuevos hallazgos de MAH en la raza canina Schnauzer miniatura en nuestro laboratorio refuerza la hipótesis de que esta raza presenta algún tipo de alteración en la respuesta inmunitaria que los hace más predispuestos a enfermarse con *M. avium*. Puesto que los seres humanos son relativamente resistentes a la infección por *M. avium*, a menos que estén inmunocomprometidos y la transmisión zoonótica no es más probable que la transmisión por el medio ambiente, podría considerarse el tratamiento de los perros afectados. En el felino afectado por *M. bovis* se estima que la fuente de infección pudo haber sido el alimento ya que la administración de vísceras crudas es una fuerte costumbre instaurada en la población sumado a que la TB bovina todavía es endémica en Argentina. Los riesgos de transmisión de esta bacteria a los dueños es muy baja, sin embargo representa un factor potencial de riesgo para la Salud Pública. Considerando la prevalencia de la tuberculosis bovina, la costumbre de alimentar a los gatos con vísceras crudas, el aumento de enfermedades inmunosupresoras que pueden padecer los mismos y sumado a la dificultad diagnóstica, harían suponer una subvaloración de los casos de TB por *M. bovis* en felinos. Por todo lo dicho el rol del veterinario, representa una fortaleza superadora para el abordaje de las micobacteriosis en pequeños animales y tendrá un impacto positivo en la resolución de los problemas ocasionados por las mismas en humanos y animales tanto en el ámbito urbano como rural.

Bibliografía:

- Eggersj. S., Parker G.A., Braaf H. A. & Mense M.G. (1997). "Disseminated *Mycobacterium avium* infection in three Miniature Schnauzer litter mates". J. vet. diagn. Invest., 9, 424-427.
- Acha, P.N. y Szyfres, B. Tuberculosis zoonótica. En: Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Washington. Organización Panamericana de la Salud. (2003); 266-283.
- Jang SS; Hirsh DC. (2002). Rapidly growing members of the genus *Mycobacterium* affecting dogs and cats. J Am Anim. Hosp. Assoc 38: 217-220
- Martínez Vivot M.; Gómez N. (2010). Tuberculosis en felinos. En: Guida N. y Gómez N. Enfermedades Infecciosas de los caninos y felinos. Buenos Aires. Editorial Intermédica 393-399.

B36- EVALUACIÓN DE LA SUPERVIVENCIA DE *CAMPYLOBACTER* TERMOFÍLICOS EN DIFERENTES MEDIOS DE CRIOPRESERVACIÓN

P. Joaquim¹, V. Baldone², B. Brihuega¹, P. Chacana¹

¹Instituto de Patobiología, CICVyA.

INTA. ²Estación Experimental Anguil,

NTA.correspondencia:

joaquim.patricia@inta.gob.ar

Introducción: Las campylobacterias termofílicas son microorganismos que causan enteritis en humanos y se encuentran como bacterias comensales en el tracto gastrointestinal de un amplio grupo de animales de sangre caliente como las aves de corral y el ganado y también se detectan con frecuencia en alimentos derivados de esos animales. Dentro de las campylobacterias termofílicas, las más frecuentemente aisladas tanto en humanos como en aves, bovinos y porcinos son *C. jejuni* (subespecie *jejuni*) y *C. coli*.

Estos microorganismos han cobrado relevancia en los últimos años debido a que son la principal causa de intoxicación alimentaria en la población. Es importante poder contar con colecciones de cepas que permitan el desarrollo y la evaluación de metodologías, tanto clásicas como innovadoras, para la detección de estos microorganismos y así garantizar la inocuidad de los productos de origen animal en toda la cadena de producción.

Uno de los métodos más utilizados para el almacenamiento prolongado de bacterias es la congelación a bajas temperaturas debido a su practicidad y bajo costo de mantenimiento. Las células congeladas mantienen su viabilidad si se guardan a bajas temperaturas, idealmente en nitrógeno líquido a -196°C o bien, en el caso de las bacterias, a -70°C. La criopreservación es un método simple, no requiere de equipos ni reactivos costosos, por lo que puede emplearse rutinariamente en laboratorios que tan solo cuenten con congeladores de (-70°C). El uso de sustancias que evitan la cristalización del agua citoplasmática, conocidas como crioprotectores, aumentan la supervivencia de las células cuando se congelan. Entre los crioprotectores más comunes se encuentran las soluciones de sacarosa, dextran, glicerol, dimetilsulfóxido (DMSO), etilenglicol, polivinil pirrolidona, o bien soluciones ricas en proteínas como leche, plasma, suero e incluso sangre hemolizada.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la supervivencia de cepas de *C. coli* y *C. jejuni* en diferentes medios de criopreservación durante un periodo de seis meses.

Materiales y métodos: Se utilizaron cuatro cepas de *Campylobacter* termofílicas aisladas en el Laboratorio de Bacteriología del Instituto de Patobiología, CICVyA, INTA Castelar. Tres de ellas correspondían a *C. jejuni* - aisladas a partir de muestras de materia fecal de gallinas ponedoras y de bovinos-; y una cepa de *C. coli* aislada de muestras de materia fecal de porcinos.

Las cepas fueron cultivadas sobre placas de agar Skirrow e incubadas a 42°C bajo condiciones de microaerofilia. Posteriormente, colonias aisladas de las bacterias fueron resuspendidas en diferentes medios de criopreservación: 1) Caldo Cerebro Corazón con 30% glicerol; 2) Caldo Brucella con 15% de glicerol; 3) Caldo Nutritivo con 5% de DMSO; y 4) Caldo Tioglicolato con 30% de glicerol. Una vez resuspendidas las colonias, los criotubos se almacenaron rápidamente a -70°C.

Se evaluó la viabilidad de las bacterias en los distintos medios de criopreservación luego de tres y seis meses posteriores a su congelación. Para esto, los

criotubos que se encontraban a -70°C fueron descongelados a temperatura ambiente por 5 minutos. Se transfirió 100 µL del contenido de cada criotubo a tubos con 10 ml de Caldo Tioglicolato para determinar la viabilidad de los microorganismos. Los tubos fueron incubados a 42°C en microaerofilia y a las 48 horas se tomó una alícuota que fue sembrada sobre placas de Agar Base con el agregado de 5% de sangre bovina. Las placas se incubaron durante 48 horas en las mismas condiciones anteriores y se determinó presencia o ausencia de crecimiento bacteriano. Se confirmó la identidad del crecimiento bacteriano mediante tinción de Gram, oxidasa, catalasa e hidrólisis del hipurato

Resultados: A los tres y seis meses luego de que las cepas fueron congeladas, se logró recuperar todas las cepas que habían sido preservadas en Caldo Cerebro Corazón con 30% de glicerol, Caldo Brucella con 15% de glicerol y en Caldo Nutritivo con 5% de DMSO. Por el contrario a los tres meses ninguna de las cepas pudo ser recuperada a partir de Caldo Tioglicolato con 30% de glicerol

Discusión: No todos los microorganismos se comportan igual ante la congelación, *Campylobacter* se encuentra dentro de un grupo de bacterias sensibles a este procedimiento. Tres de los cuatro medios de criopreservación evaluados en este trabajo fueron adecuados para la conservación de las cepas durante al menos seis meses. Se observó que el caldo Tioglicolato es muy efectivo para ser utilizado como medio de crecimiento bacteriano, pero no sería recomendable como medio de criopreservación. Se continuará la evaluación de estos medios para determinar el tiempo máximo en el que los microorganismos conservan la viabilidad.

Bibliografía:

- WHO, *Campylobacter*. Fact sheet No 255. Octubre 2011
- Manual de la OIE sobre animales terrestres. Capítulo 2.9.3. *Campylobacter coli* y *Campylobacter jejuni*. 2008
- Malbrán, G manual de procedimientos *Campylobacter*. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas, 2001, Buenos Aires, Argentina.
- Congelación bacteriana: Factores que intervienen en el proceso. NOVA – Publicación científica ISSN:1794-2470 VOL.3 No. 3 Enero-Junio de 2005:1-120
- Utzinger, D., Rivera, P., Hernández, F.: Un metodo sencillo para preservar cepas de *Helicobacter* y *Campylobacter*.

B37- INDICADORES DE CRECIMIENTO PARA LA APROXIMACIÓN DIAGNÓSTICA DE *MYCOBACTERIUM AVIUM* SUBSP. *PARATUBERCULOSIS* EN MEDIO DE CULTIVO LÍQUIDO

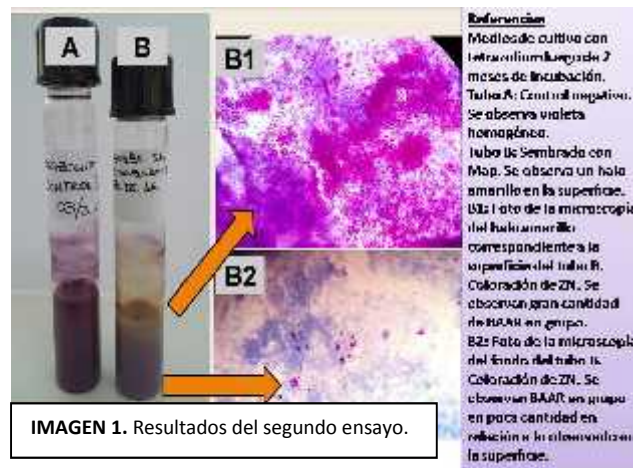
MA. Romero^{1, 2}, LM Peralta², MF Alvarado², GE Travería².

¹Comisión de Investigaciones Científicas de la provincia de Buenos Aires (CIC). ²Centro de Diagnóstico e Investigaciones Veterinarias (CEDIVE), FCV, UNLP. Correo de contacto: magaliandrea.romero@yahoo.com.ar

Introducción. La paratuberculosis es una enfermedad bacteriana, producida por el *Mycobacterium avium* subsp *paratuberculosis* (Map), un bacilo ácido alcohol resistente (BAAR) de crecimiento lento en los medios de cultivo convencionales; en el medio de Herrold con micobactina, por ejemplo, tarda entre 2 y 4 meses en desarrollar colonias visibles. Esta enfermedad ha cobrado mucha importancia debido al aumento de su prevalencia en los últimos años, y dadas sus características, se intenta optimizar su detección. En animales con signos clínicos el diagnóstico de rutina consiste en pruebas serológicas y cultivo bacteriológico (gold estándar). En este sentido, se ha desarrollado un medio de cultivo líquido en proceso de estandarización pero que ha dado resultados promisorios, logrando el desarrollo de Map en algunos casos a partir de los 7 días (Romero, 2015). La dificultad de esta técnica radica en la imposibilidad de visualización macroscópica de crecimiento, por lo tanto se realizan coloraciones ciegas de Ziehl Neelsen (ZN) semanales para detectar grupos de BAAR de morfología compatible con Map. Contar con un indicador de crecimiento en el medio líquido para realizar un screening de las muestras antes de colorearlas, facilitaría el protocolo diagnóstico. El objetivo de este trabajo fue probar la utilización de 4 indicadores de crecimiento por color en el medio de cultivo mencionado a fin de favorecer la practicidad de su utilización.

Materiales y métodos. Se utilizaron en principio 8 tubos con 10 mL de medio de cultivo líquido (Romero, 2015) en los cuales se probaron por duplicado la resazurina y el tetrazolium como indicadores de reacciones REDOX y el verde malaquita y rojo fenol como indicadores de variación de pH, 250 µg/mL. Debido a la distorsión que genera la yema de huevo del medio, sin sembrar la resazurina se vió color violeta, el tetrazolium color amarillo, el verde malaquita color celeste y el rojo fenol color anaranjado. Se sembró en estos tubos aislamientos de *Mycobacterium chelonae* (*M. chelonae*), a fin de obtener un resultado rápido sobre la eficacia de estos indicadores. Se incubaron 7 días a 37°C y se evaluaron. Posteriormente se utilizaron 4 tubos idénticos a los anteriores donde se agregó tetrazolium 250 µg/mL en cada uno, en uno se sembró *M. chelonae*, en otro se sembró Map de una cepa diagnosticada en este medio de cultivo y confirmada por PCR IS900 y dos se dejaron sin sembrar como controles negativos. Se realizó coloración de ZN para la valoración de crecimiento en cada prueba.

Resultados. En el primer ensayo observamos que solo hubo cambio en los medios con resazurina y con tetrazolium. El medio con tetrazolium viró a violeta, y a la tinción de ZN se observaron BAAR; la resazurina se aclaró y, aunque el viraje fue menor que el del tetrazolium, a la coloración con ZN hubo mayor desarrollo y observamos fluorescencia bajo la luz UV. En el segundo ensayo, los 4 tubos fueron virando a color marrón a las 18h y violeta a las 36h. Pasados dos meses, tanto el tubo con *M. chelonae* como el tubo con Map mostraron un halo color amarillo en la parte superior del medio de cultivo. Dados estos resultados realizamos coloración de ZN en ambos tubos tanto del fondo del tubo como del halo superior y observamos que el Map había crecido mayormente en la superficie y el *M. Chelonae* distribuido en todo el tubo.



Discusión y conclusiones. Si bien no hemos logrado una visualización macroscópica rápida del crecimiento en este medio de cultivo, pudimos hacer una aproximación a los dos meses utilizando el tetrazolium, tiempo que sigue siendo ventajoso en muchos casos en relación al medio sólido de Herrold. Respecto de los otros indicadores y según nuestros resultados, el más prometedor es la resazurina y su capacidad de generar fluorescencia ante reacciones REDOX, ya que el crecimiento en ésta fue superior respecto del tetrazolium. Se evaluarán posteriormente las concentraciones utilizadas para evitar un posible efecto inhibitorio. Obtuvimos datos muy interesantes que serán utilizados en próximas experiencias para abordar esta problemática y ajustar la técnica diagnóstica de paratuberculosis a partir de cultivos de muestras clínicas.

Bibliografía. - Romero MA, Santangelo MP, Travería GE.

"Medio de cultivo líquido para el desarrollo temprano de Map". Segundo congreso Internacional Científico y Tecnológico de la provincia de Buenos Aires, 2015. Disponible: <http://concyt2015.cic.gba.gov.ar/posters.html>

- Romero MA, Alvarado MF, Di Paolo LA, Santangelo MP, Travería GE. "Uso de un medio de cultivo líquido para el desarrollo temprano de paratuberculosis". VI jornadas de jóvenes investigadores UBA, 2016. Disponible: http://www.fvet.uba.ar/investigacion/vi_jji_libro_de_resumenes.pdf P. 149.
- Whittington RJ, Whittington AM, Waldron A, Begg DJ, De Silva K, Purdie AC, Plain KM. "Development and validation of a Liquid Medium (M7H9C) for Routine Culture of *Mycobacterium avium* subsp *paratuberculosis* To Replace Modified Bactec 12B Medium" Journal of Clinical Microbiology, 2013. Doi: 10.1128/JCM.01373-13.
- Jones JJ, Falkinham JO. "Decolorization of Malachite Green and Crystal Violet by Waterborne Pathogenic *Mycobacteria*". Antimicrobial agents and chemotherapy, July 2003, Vol. 47,

B38- DETECCIÓN DE LEPTOSPIRAS PATÓGENAS EN SUEROS CANINOS MEDIANTE LA AMPLIFICACIÓN ISOTÉRMICA MEDIADA POR LA FORMACIÓN DE LOOPS (LAMP).

S. Grune Löffler ^{1,2}, L. Redondo ^{1,2}, C. Leiva ^{1,2}, M. Jacobsen ^{1,2}, M. Martínez ¹, G. Romero ¹, B. Brihuega ¹

1. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Instituto de Patobiología, Laboratorio de Leptospirosis.
2. Consejo Nacional de Investigación en Ciencia y Tecnología (CONICET).

email: grune.sylvia@inta.gob.ar

Introducción: La leptospirosis es una zoonosis de distribución mundial y es endémica en muchos países. Los países más afectados son los del continente asiático y americano. En nuestro país, la leptospirosis produce importantes pérdidas económicas por abortos en animales de producción. En bovinos, como en pequeños rumiantes, los animales jóvenes nacen débiles y mueren. En los últimos años se produjeron muertes de terneros de cría como consecuencia de la infección por *L. interrogans* serovar Pomona (Draghi et al., 2011). En las pjaras produce abortos, fetos momificados y lechones débiles. En animales de compañía como los caninos, da cuadros agudos con diarrea, vómitos, deshidratación, ictericia, en algunos casos pudiendo llegar a la muerte; o casos crónicos dejando secuelas renales irreversibles. A pesar del impacto de esta enfermedad, en nuestro país no existen programas nacionales de prevención. La enfermedad posee un gran potencial zoonótico, debido al contacto del hombre con los animales domésticos. Durante un brote, pueden estar involucradas en la circulación de leptospirosis varias especies animales que convivan en biocenosis. Hay una relación simbiótica entre la leptospira y su hospedador que es de gran importancia para la perpetuación de la enfermedad en la población animal. Para la epidemiología hay dos factores decisivos: la eliminación de leptospirosis con la orina de los animales infectados y la supervivencia de los gérmenes fuera del organismo (Brihuega & Martiarena 1996). Esta enfermedad está difundida en distintas ecoregiones y zonas de pocos recursos en nuestro país, resultando ser una zoonosis de alto riesgo y de impacto socio económico. Una rápida y sencilla metodología ayudará a su diagnóstico y control. Esta zoonosis puede ser transmitida al hombre principalmente por inadecuado manejo sanitario de desechos metabólicos de animales de producción, silvestres, y mascotas.

Objetivo: Este estudio tuvo como objetivo poner a punto la técnica de la amplificación isotérmica mediada por la formación de loops (LAMP) para detectar trazas de ADN de leptospirosis patógenas presente en sueros caninos.

Materiales y Métodos: Se utilizaron 80 sueros caninos en total para este estudio y se realizó la titulación de los mismos mediante la Técnica de Microaglutinación (MAT). Se procedió a la extracción de ADN de sueros caninos mediante la utilización de una resina quelante Chelex-100. Para verificar el ADN extraído a partir de las distintas muestras biológicas siguiendo los protocolos propuestos se realizó una PCR dúplex para verificar el éxito de la extracción.

Resultados: Del total de 80 sueros, 14 sueros dieron resultados positivos tanto a la PCR como a la LAMP, 35 dieron positivos a MAT pero no a PCR o LAMP y 31 sueros dieron negativos tanto a MAT como a la PCR o LAMP. Estos resultados nos indican que los casos en donde una titulación es baja (1/200) en caninos y sin sintomatología, no se detectaron trazas de ADN en el suero. Sin embargo, en los casos de caninos que presentaron una titulación alta (1/12800) o de titulación baja (1/200) y con sintomatología que fueron los 14 sueros que dieron positivos tanto a PCR como también a LAMP, representan casos agudos de leptospirosis,

dado que la presencia de trazas de ADN en titulaciones bajas nos indica que está iniciando la leptospiremia y las titulaciones altas que está cursando la leptospiremia. Este método de diagnóstico molecular es robusto, sencillo y transferible a laboratorios de baja complejidad, ya que no requiere de equipamientos especiales, como termociclador, para poder ser llevado a cabo. La LAMP es capaz de detectar trazas de ADN de *Leptospira* spp. patógenas en muestras clínicas.

Discusión: Los casos positivos a PCR y LAMP, pero negativos a MAT, corresponden a casos agudos, donde hay leptospiremia pero no anticuerpos aún. Los casos positivos a MAT pero no a PCR y LAMP son casos donde ya no hay leptospiremia y se detectan sólo anticuerpos y corresponderían a casos con mayor evolución. Y los sueros negativos a MAT, PCR y LAMP no eran casos de leptospirosis.

Palabras claves: diagnóstico molecular, caninos, leptospirosis

Referencias bibliográficas:

1. Adler, B. 2016. *Leptospira* and Leptospirosis. Current topics in Microbiology and Immunology. Volume 387. Springer, Berlin, Alemania. 295 pg.
2. Brihuega B., Martiarena B..1996.Prevalencia de leptospirosis en insuficiencia renal en caninos. *Rev Vet. Arg.* 13 (130):746-752
3. Brihuega B., Martiarena B. 1994. Incidencia de la leptospirosis en caninos de la ciudad de Buenos Aires y Gran Buenos Aires. *Rev Vet Arg* vol 102 :98.
4. Draghi M.G., B. Brihuega, D. Benítez, J.M. Sala, G.M. Biotti, M. Pereyra, A. Homse, and L. Guariniello. 2011. Brote de leptospirosis en terneros en cría en la provincia de Corrientes, Argentina. *Revista Argentina de Microbiología* 43 :42-44.
5. Koizumi N, Nakajima C, Harunari T, Tanikawa T, Tokiwa T, Uchimura E, Furuya T, Mingala CN, Villanueva MA, Ohnishi M, Suzuki Y. A new loop-mediated isothermal amplification method for rapid, simple, and sensitive detection of *Leptospira* spp. in urine. *J Clin Microbiol.* 2012;50 (6):2072-4. doi: 10.1128/JCM.00481-12.

B39- USO DE PARÁMETROS DE EVALUACIÓN SEMINAL COMO INDICADORES DE DAÑO CAUSADO POR PATÓGENOS DE LA REPRODUCCIÓN

C. Cagnoli ^{1,2}, M.L. Chiapparrone ¹, C. Cacciato ^{1,3}, P. Soto ¹, M. Catena ¹

1. Laboratorio de Microbiología Clínica y Experimental. NACT. SAMP. Unidad Ejecutora de CONICET (CIVETAN). Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires. 2. Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica. 3 Comisión de Investigaciones Científicas. ccagnoli@vet.unicen.edu.ar

Introducción. El análisis seminal de rutina en los bovinos tiene como objetivo predecir la fertilidad y la capacidad fecundante del toro. Dentro de los parámetros más frecuentemente evaluados se encuentran: concentración, motilidad, morfología, vitalidad espermática, integridad y funcionalidad de la membrana plasmática. Otros parámetros que pueden evaluarse son el daño del ADN y la integridad acrosomal. La integridad de la membrana plasmática y del acrosoma, son dos de los parámetros más importantes debido a que la membrana es fundamental para el metabolismo del espermatozoide e imprescindible en varios eventos involucrados en la fecundación, como son la capacitación, la reacción acrosómica y la fusión con el oocito. La evaluación de estos parámetros puede utilizarse no sólo para medir la calidad seminal con fines reproductivos, sino también para determinar el daño que puede causar un agente infeccioso sobre los espermatozoides en un modelo experimental.

El objetivo del presente trabajo fue la puesta a punto de diversas técnicas para medir el daño espermático causado por la adhesión de *Campylobacter fetus*.

Materiales y métodos. Para la puesta a punto de las técnicas, se utilizaron cinco pajuelas comerciales de semen criopreservado. Tres fueron desafiadas con *Campylobacter fetus* para el desarrollo de un modelo experimental. El semen fue incubado en medio SOF con heparina en estufa a 38 °C con 5% CO₂ durante 24 h, para inducir la capacitación espermática. Las técnicas utilizadas fueron: coloración vital eosina-nigrosina, test hiposmótico (HOST), coloración Trypan Blue/Giemsa y el test de la dispersión de la cromatina (SCD).

La tinción EOSINA-NIGROSINA se utilizó para evaluar la integridad estructural de la membrana plasmática. Se basa en la permeabilidad a la eosina de las membranas de los espermatozoides muertos, por lo tanto, los espermatozoides vivos no se teñirán, mientras que los muertos se verán coloreados. Para realizar esta técnica se colocó una alícuota de semen en un portaobjeto sobre platina térmica a 37°C. Se agregó la eosina, se homogeneizó y posteriormente se añadió nigrosina y realizó el extendido. La observación se realizó en microscopio óptico (40X) y se efectuó un conteo de espermatozoides vivos y muertos.

El test HOST se utilizó para evaluar la funcionalidad de la membrana espermática. Se basa en la semipermeabilidad de las membranas plasmáticas intactas y bioquímicamente activas de los espermatozoides vivos, que les permite absorber líquido y expandirse en situaciones hiposmóticas. Al exponer los espermatozoides a una solución con dicha característica, la cola se "hincha", lo que indica el movimiento de agua a través de la membrana para lograr el equilibrio. Así, los espermatozoides con la membrana intacta y con los mecanismos de intercambio de fluidos en correcto funcionamiento, se observarán con la cola "enrollada". En esta prueba se incubó el semen en un medio hiposmótico (citrato de sodio y fructosa, 150 mOsm/L) en baño María a 37 °C durante 30 min. La observación se realizó en microscopio de campo oscuro (40X), los flagelos enrollados o acodados, parcial o totalmente se consideraron reacciones

positivas. La coloración TRYPAN BLUE/GIEMSA fue utilizada para determinar la integridad y la reacción acrosómica. En esta técnica se colocó una alícuota del semen sobre un portaobjeto y se añadió el colorante Trypan Blue en una concentración del 0.27%, realizando un extendido. Luego del secado se sumergió en Giemsa durante 24 h. La observación se realizó en microscopio óptico (100X), considerando como activados a aquellos espermatozoides que poseían alteraciones en la membrana acrosómica.

Para evaluar la fragmentación del ADN se utilizó el test SCD. El fundamento de la técnica es la remoción de las proteínas mediante soluciones de lisis, con la consecuente formación de "loops" de ADN que se observan como un halo periférico alrededor de una estructura nuclear residual o "core". Los espermatozoides con elevada fragmentación de la cromatina no producen halo de dispersión, en cambio los espermatozoides con ADN intacto forman halos extensos. Los espermatozoides fueron incluidos en portaobjetos con una matriz de agarosa y tratados con una solución ácida de HCl para desnaturalizar el ADN. Posteriormente, se utilizaron dos soluciones de lisis para remover las membranas y proteínas. El efecto fue visualizado por la tinción 4',6-diamino-2-fenilindol (DAPI).

Resultados. Se lograron poner a punto los protocolos de las técnicas mencionadas con las siguientes modificaciones: para el caso del test HOST el tiempo fue ajustado a 60 min para una mejor observación del efecto. En la coloración TRYPAN BLUE/GIEMSA la tinción de Giemsa se realizó en estufa a 37°C durante dos horas para acelerar la reacción. De esta manera se obtuvo una mejor tinción y menor cantidad de precipitado del colorante, facilitando la visualización. En el test SCD se utilizó Mercapto-Etanol en la solución de lisis, en vez de DTT como cita la bibliografía, obteniéndose resultados adecuados. Mediante estas técnicas se pudieron observar diferencias entre los espermatozoides tratados con *Campylobacter fetus* y los controles, en la integridad y la funcionalidad de la membrana.

Discusión. Estas técnicas permitieron determinar el daño espermático causado por *Campylobacter fetus* y podrían ser aplicadas en modelos experimentales para otros patógenos, además de su uso habitual en reproducción.

Bibliografía. -Carretero, M.I.; Giuliano, S.M.; Arraztoa, C.C.; Neild, D.M (2012). Evaluación del ADN en espermatozoides de llama. *Spermova*; 2 (1): 22-25.

-Kóvacs, A.; Sarlós, P.; Oláh, J.; Egerszegi, I. (2010). Improved viability and acrosome staining to frozen-thawed semen samples. *SPASB*, 43 (1).

-Rubio-Guillén, J.L.; Quintero-Moreno, A.A; González Villalobos, D.M, (2009). Efecto de la criopreservación sobre la integridad de la membrana plasmática y acrosomal de espermatozoides de toros. *Rev Científ, FCV-LUZ*. Vol. XIX, Nº 4, 382-389

-Serafini, R; Longobardi, V; Spadetta, M; Neri, D; Ariota, B; Gasparri, B.; Di Palo, R. (2014). Trypan Blue/Giemsa staining to assess sperm membrane integrity in Salernitano stallions and its relationship to pregnancy rates. *Reprod Dom Anim*. 49, 41-47.

B40- ESTUDIO LONGITUDINAL SOBRE TRASMISIÓN Y PERSISTENCIA DE *E. Coli* O157:H7 EN BOVINOS

L. C. Rhades¹; F.J. Babinec^{1,2}; A. A. Cataldi³; A. Pordomingo¹; M. Larzabal³; V. N. Baldone¹; N. Amigo³; L. Urquiza¹; L. Gelid¹; P. J. Delicia⁴; M. C. Fort¹;

1) EEA INTA Anguil 2) Facultad de Agronomía UNL.Pam 3) Instituto de Biotecnología INTA Castelar 4) UTN Facultad Regional Rosario rhades.luis@inta.gob.ar

INTRODUCCIÓN

E. coli O157:H7 es una de las causantes del síndrome urémico hemolítico (SUH), como consecuencia de la producción de toxina Shiga (Stx) en el intestino, que actúa sobre los riñones, cerebro y otros órganos en el hombre.

El SUH es una enfermedad endémica en Argentina, afectando a niños de entre 6 meses a 6 años de edad.

Estudios realizados a campo, demostraron que el 20% de los bovinos estaban infectados con *E. coli* O157:H7. La dinámica de la transmisión entre los animales tiene implicancia en el riesgo de infección al ser humano; situación que adquiere relevancia epidemiológica, por mantener a la bacteria en el ambiente y favorecer su diseminación.

El objetivo de este estudio fue conocer la dinámica de la excreción de *E. coli* para contribuir a proyectar medidas tendientes a disminuir la prevalencia y minimizar el riesgo para la salud pública.

MATERIALES Y METODOS

Se utilizaron 120 terneros machos, recién destetados, de 4 y 6 meses de edad y entre 87 kg y 224 kg de peso; encerrados en 36 corrales, albergando entre 3 a 4 terneros por redil, distribuidos por peso, en dos bloques: livianos y pesados.

Desde el 19 de marzo de 2014 hasta el 24 de abril de 2015, se tomaron muestras mensuales, mediante el Hisopado de la Mucosa Recto Anal (HMRA), a todos los animales.

Los HMRA se incuban en caldo tripticasa soja (TSB), suplementado con vancomicina, cefixima y telurito de potasio, para la posterior separación inmunomagnética (SIM) de las cepas de *E. coli* O157. Luego de la SIM, se sembró la suspensión en Agar Mac Conkey Sorbitol + cefixima telurito + suplemento MUG (SMAC_{CT}) para seleccionar las colonias de *E. coli* O157:H7 que no fermentan el sorbitol y el MUG.

Para confirmar el aislamiento de las colonias que no fermentaron al sorbitol y no metabolizaron al MUG, se las somete a la prueba de aglutinación con látex recubierto de anticuerpos anti O157:H7 (Test de Latex).

Las cepas de *E. coli* O157:H7 identificadas, se replicaron en medio Agar Mac Conkey y al finalizar la incubación, se acondicionaron para su almacenamiento y conservación a -74°C, hasta la posterior extracción de ADN, para la caracterización genética de las cepas.

Se utilizó la reacción de PCR Multiplex para detectar los genes de la región constante de Intimina (*eae*), de las toxinas Shiga 1y2 (*stx1* y *stx2*), y del responsable de la síntesis del antígeno O (*rfbO*₁₅₇).

RESULTADOS

Setenta y tres de 120 (61,86 %) animales excretaron STEC, de ellos, 60 (82,19 %) una sola vez; 12 (16,44 %) dos veces y entre ellos, 2 lo hicieron en forma consecutiva. Solo 1 animal (1,37 %) excretó STEC en tres oportunidades.

De los 13 terneros excretores de STEC en el primer muestreo, solo 1 excretó STEC en el último diagnóstico.

De marzo hasta junio, con los terneros encerrados, consumiendo dieta de recría, la excreción de STEC va disminuyendo de 13/120, 5/120, 4/120, 2/120 y 1/120.

De julio a noviembre, pastorearon a campo, observándose un elevado número de animales excretores, 18/120 en setiembre y 18/120 en noviembre. A partir de diciembre vuelven a los corrales y la prevalencia baja a 5/120 en diciembre, 1/120 en enero y vuelve a elevarse a 6/120 en abril de 2015.

La excreción de STEC es elevada en marzo, abril, setiembre, noviembre, diciembre 2014 y abril 2015.

Se detectaron en todas las cepas aisladas (73) los genes de la región constante de Intimina (*eae*) y del responsable de la síntesis del antígeno O (*rfbO*₁₅₇).

Los animales que excretaron STEC al inicio, portaban los genes de Stx1, Stx2 y Stx1y2, mientras los animales que excretaron STEC en el último HMRA, portaban solamente genes de Stx2 y Stx1y2. La presencia de Stx1 se da solo en los primeros tres meses, representando el 11% de la portación total de genes Stx, mientras que el en Stx2 se detecta en 9/10 muestreos (33%) y Stx1y2 en 7/10 (56%), estas dos últimas con niveles variables de presencia durante todo el periodo de ensayo.

De 12 animales que excretaron STEC dos veces, 2 portaban el gen de Stx1 y luego Stx1y2. Dos portaron primero Stx2 y luego Stx1y2. Un animal, consecutivamente, portó Stx1y2 y luego Stx2. Dos portaron el gen Stx2 y 5 Stx1y2. Un animal, excretó STEC 3 veces; 2 portaron consecutivamente Stx2 y una vez Stx1y2.

Como conclusión podemos decir que la excreción de STEC varía a lo largo del año, con picos en marzo, abril, mayo (otoño); y más elevados en setiembre y noviembre (primavera) con pastoreo a campo y nuevamente un incremento en abril de 2015 (otoño). La portación de genes Stx es variable. El gen Stx1 se detecta en terneros jóvenes y no se vuelve detectar en los HMRA posteriores. La presencia del gen Stx2 fue constante a lo largo del ensayo. La portación del gen Stx1y2 es elevado en marzo y significativamente mayor durante el pastoreo de setiembre y noviembre.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Almada, J.; Estrella, P.; Ottaviani, L.; Pérez, S.; Rodríguez, E.; Chinen, I.; Carbonari, C.; Deza, N.; Miliwebsky, E.; Baschbier, A.; Rivas, M. Relación clonal de *E. coli* O157 H7 aislada de un caso de SUH, un portador asintomático muestras de alimentos, La Pampa, Argentina, 2008. VTEC Asociación de Microbiología Argentina, Simposio VTEC, Bs. As. 2009.
- 2.- Sargeant, J. M.; Gillespie, J. R.; Oberst, R. D.; Phebus, R. K.; Hyatt, D. R.; Bohra, L.; Galland, J. C. Results of a longitudinal study of the prevalence of *Escherichia coli* O157 H7 on cow calf farm. AVMA. American Journal of Veterinary Research, Nov 2000, Vol 61, N° 11, pp 1375 – 1379.
- 3.- Vilte, D. A.; Larzábal, M.; Cataldi, A. A.; Mercado, E. C.; Bovine Colostrum Contains Immunoglobulin G Antibodies against Intimin, EspA, and ESPB and Inhibits Hemolytic Activity Mediated by Type Three Secretion System of Attaching and Effacing *Escherichia coli*; Clinical and Vaccine Immunology, Aug.2008; Vol. 15, N° 8; p. 208-1213
- 4.- Soo Jin Jeon, Elso, M.; DiLorenzo, N.; Clif Lamb, G.; Kwang Cheol Jeong, Evaluation of Animal Genetic and Physiological Factors That Affect the Prevalence of *Escherichia coli* O157 in Cattle. Plos – One February 2013, volume 8, issue 2 www.plosone.org

B41- IDENTIFICACIÓN DE AGENTES ETIOLÓGICOS EN VACAS LECHERAS DE PRODUCCIÓN FAMILIAR CON MASTITIS EN LA PROVINCIA DE MISIONES

J. Giraudo¹; E. Sticotti¹; M. Mació¹; M. Schneider¹; C. Rang¹; E. Rojo²; V. García³; G. Magnano¹; A. Macías¹

¹Grupo Sanidad en Rumiantes, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto. ²Ministerio del Agro de la provincia de Misiones. ³Secretaría de Agricultura Familiar de la Nación.

esticotti@ayv.unrc.edu.ar

Mastitis es la inflamación de la glándula mamaria causada por agentes químicos o físicos, pero generalmente están relacionados con una infección bacteriana. Técnicas inadecuadas de ordeño favorecen el establecimiento de esta entidad patológica entre un 70 a 80% (1). El principal reservorio de patógenos son los cuartos infectados, diseminándose durante el ordeño. Las medidas de control están focalizadas en la aplicación de prácticas higiénicas durante el ordeño, desinfección de pezones pos ordeño, la terapia de vaca seca, lavado y desinfección de los equipos y terapia antimicrobiana de las infecciones.

En la provincia de misiones hay pequeños productores de bovinos, que ordeñan y venden la leche y sus derivados directamente al público en Ferias Francas o en pequeñas cooperativas o industrias queseras. Poseen vacas doble propósito, la mayoría realizaba un solo ordeño diario y manual, unos pocos productores tenían maquina de ordeñar.

Una práctica común en esta región es la participación del ternero para estimular la bajada de la leche. Aunque esta metodología presentaría menor riesgo de infección, esta práctica establece restricciones para la implementación de la desinfección pos-ordeño (5).

Conocer la presencia de mastitis, y los patógenos involucrados en cada sistema de producción en particular, contribuye a poder tomar medidas sanitarias de control, prevención y tratamiento acordes a dichos sistemas.

Objetivo: Identificar agentes etiológicos bacterianos productores de infecciones intramamarias en vacas pertenecientes a productores familiares de la provincia de Misiones y determinar patrones de sensibilidad a antibióticos.

Materiales y métodos. Durante los años 2013, 2014 y 2015 se visitaron 449 productores de bovinos lecheros, con un promedio de 7 vacas en ordeño.

Se colectaron en total 194 muestras de 97 productores, se examinaron clínicamente a la totalidad de las hembras identificando mastitis clínica (MC), y mastitis subclínica (MSC) mediante la prueba de *California Mastitis Test-CMT* (CMT), 67 muestras fueron de cuartos individuales con MC y 127 clasificadas como MSC a nivel vaca con valores a CMT superiores a 2.

Se recolectaron 10 ml de leche en recipiente estéril, previo descartar los primeros chorros y desinfección de los pezones, posteriormente refrigeradas hasta su procesamiento en el laboratorio, donde se inoculó 10 µl en Agar Sangre y MacConkey, las mismas se incubaron a 37°C y su lectura se realizó a las 24, 36 y 48hs. Luego de leer las placas se procesaron las diferentes colonias para su clasificación, se aplicaron los esquemas de identificación, siguiendo los perfiles bioquímicos según el *National Mastitis Council*.

De aquellas muestras de positivas a CMT se realizó recuento de células somáticas se utilizó métodos directos de recuento microscópico.

La sensibilidad de las cepas aisladas se estableció mediante la técnica de difusión de disco, según las recomendaciones del *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)* (4).

Resultados. De las 67 muestras con MC, 56 (83.6%) resultaron positivas al cultivo: *Staphylococcus coagulans* negativa (SCN) 22 (32.8%), *Staphylococcus aureus* 14 (20.8%), *Streptococcus* ambientales 11 (16.4%), Gram negativos 11(16.4%), *Corynebacterium bovis* 4 (5.9%), Negativos 5 (7.4%).

En las 127 muestras con MSC, se correspondieron a recuentos de células RCS mayores a 500.000 células/ml de leche.

Los resultados bacteriológicos fueron: SCN 37 (29,1%), *Staphylococcus aureus* 24 (18,8%), *Streptococcus* ambientales 7 (5,5%), Gram negativos 1 (0,8%), *Corynebacterium bovis* 13 (10,2%), *Arcanoides* 4 (3,1%), negativo 37 (29,1%), contaminadas 4 (3,1%).

Se seleccionaron 20 cepas de *S. aureus* para realizar antibiogramas, 13 fueron aislados de MC y 7 de MSC. Todas las cepas fueron sensibles «in vitro» a Betalactámicos y Rifaximina, solo 2 cepas fueron resistentes a Oxitetraciclinas.

Discusión. La etiología hallada y la distribución fueron similares a estudios en tambos de la región lechera del centro del país en la década del 70, donde muchos de los establecimientos eran ordeñados a mano (5)

Los agentes aislados de MC y MSC no difieren de la mayoría de los estudios realizados en nuestro país sobre tambos pastoriles (3).

Los resultados obtenidos revelan un alto porcentaje de cultivos positivos en la población estudiada. La diferencia observada en la frecuencia de aislamientos entre MC y MSC es marcada en agentes ambientales como, Gram negativos y *Streptococcus* ambientales. Este resultado es entendible para los Coliformes ya que su aislamiento en MSC no es frecuente, pero no para los *Streptococcus* ambientales que en general se los aíslan en proporciones similares tanto en de MC y MSC.

Los hallazgos del estudio guardan concordancia con la literatura en cuanto a predominio de *Staphylococcus sp* frente a los demás grupos; sin embargo en el presente trabajo existe hasta 10% más de *Staphylococcus sp* con respecto a la frecuencia de presentación de los demás patógenos.

Los valores de RCS tuvieron concordancia con los resultados de CMT, pudiendo ser esta última recomendada para el diagnóstico a campo de MSC.

No se observó resistencia antimicrobiana «in vitro» a los antimicrobianos.

Los resultados encontrados contribuyen al conocimiento de esta patología y los agentes responsables de la misma, en estos sistemas de producción, pudiendo brindar herramientas acordes para el tratamiento y elaboración de medidas de control.

Bibliografía.

- 1- NATIONAL MASTITIS COUNCIL. Manejo del Hato Lechero. Una revisión comprensiva del control de la mastitis. Upjohn Company. Kalamazoo. Michigan, USA. 1-15 pp. 1990.
- 2- SCHALM, O.; NOORLANDER, O. Experiments and observations leading to development of California Mastitis Test. J. Am. Vet. Med. Assoc. 130: 199-204. 1957.
- 3- Calvino, L. F. y Tirante, L. Prevalencia de microorganismos patógenos de mastitis bovina y evolución del estado de salud de la glándula mamaria en argentina en los últimos 25 años. Revista FAVE - Ciencias Veterinarias 4 (1-2) 2005 ISSN 1666-938X
- 4- Clinical Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals. Approved standards. Document M31-A. Wayne, Pennsylvania: Clinical Laboratory Standards Institute; 2008. p. 183. (OXOID®)
- 5- González R., Giraudo J., Busso J. (1980). Investigación en mastitis subclínica. II. Agentes etiológicos bacterianos. Rev. Med. Vet. 61: 225-233.

EPIDEMIOLOGIA

E1- TUBERCULOSIS EN GATOS DOMÉSTICOS Y EN TERNEROS EN UN RODEO LECHERO DEL PARTIDO DE BOLIVAR, PROVINCIA DE BUENOS AIRES

Garro, C.J.¹, González, F.², Zumárraga, M.³, Marfil, M.³, Morris, W.⁴, Delgado, F.⁴, Garbaccio, S.⁵. 1. Grupo de Epidemiología y Medicina Preventiva. Instituto de Patobiología. CICVyA - INTA. 2. Asesor privado. 3. Instituto de Biotecnología. CICVyA - INTA. 4. Área de Patología. Instituto de Patobiología. CICVyA - INTA. 5. Área de bacteriología. Instituto de Patobiología. CICVyA - INTA. E-mail: garro.carlos@inta.gob.ar

Introducción

La tuberculosis (TB), producida por *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*), es una enfermedad infecto-contagiosa que afecta principalmente al ganado vacuno. El gato doméstico (*Felis silvestris catus*), también es susceptible a la infección por *M. bovis* (Monies et al., 2000). Sin embargo, es escasa la información local sobre TB en gatos en rodeos lecheros. El objetivo de este estudio fue confirmar la infección por *M. bovis* en gatos y en terneros de un rodeo lechero con TB endémica (Bolívar, provincia de Buenos Aires), y evaluar la asociación entre la ocurrencia de TB en terneros y la exposición a los gatos.

Materiales y métodos

Un rodeo lechero con TB endémica fue investigado. El manejo típico consistía en separar al ternero de su madre entre 12 y 24 horas postparto. Luego, ingresaban a la zona de crianza artificial donde eran alimentados con sustituto lácteo (Cooperación PREMIUM®), agua y balanceado. Para detectar la ocurrencia de TB, todas las terneras fueron sometidas a la prueba de la tuberculina (PT) aplicada en el pliegue ano-caudal (≈ 10 semanas de edad). Una colonia natural de gatos ($n = 30$) cohabitaban en la zona de crianza artificial. Para detectar la infección por *M. bovis* en gatos, se calculó un tamaño de muestra de 8 animales, asumiendo una prevalencia esperada del 25% y un 95% de confianza, utilizando el programa ProMESA (León y Duffy, 2010). Para la eutanasia de los gatos se utilizó acetilpromazina y pentobarbital sódico (Euthanyle®). Se evaluó la presencia de lesiones compatibles con TB (LCTB) y se colectaron muestras de pulmón e hígado para su estudio de microbiología (cultivo en medios Löwenstein-Jensen y Stonebrink) e histología (coloraciones de hematoxilina-eosina y Ziehl Neelsen). Para confirmar la infección por *M. bovis* en terneras positivas a la PT, se realizó la eutanasia y necropsia de dos animales (ternero 1 y 2) de 90 días de edad. Para la eutanasia de los terneros se utilizó acetilpromazina y pentobarbital sódico (Euthanyle®). En cada ternero, se evaluó la presencia de LCTB y se colectaron muestras de linfonodos (LNs) retrofaríngeos, traqueobronquiales, mediastínicos y mesentéricos para estudios de microbiología e histología. Los aislamientos se genotipificaron por la técnica de oligonucleótidos espaciadores (Spoligotyping), para la diferenciación inter-especie e intra-especie de las micobacterias del complejo *M. tuberculosis* (Kamerbeek et al., 1997).

Para evaluar la asociación entre la ocurrencia de TB en terneros y la exposición a los gatos se registró la incidencia acumulada (IA) de TB en las terneras nacidas en el rodeo lechero entre enero y diciembre de 2015. Los primeros 6 meses, 140 terneras fueron criadas naturalmente expuestas al contacto con los gatos. En los siguientes 6 meses, 113 terneras fueron criadas en la misma zona pero no estuvieron expuestas al contacto con gatos. La significancia estadística se calculó utilizando el test chi-cuadrado (Statistix 8.0, Analytical Software, 2003; Tallahassee, FL, USA).

Resultados y Discusión

En dos de los ocho gatos analizados se observaron LCTB limitadas al tejido pulmonar. Las mismas, se caracterizaban por su apariencia granulomatosa y su distribución multifocal. La histopatología del pulmón reveló, en ambos gatos con LCTB, focos granulomatosos no mineralizados y la presencia de bacilos ácido alcohol resistente. El cultivo bacteriológico y la genotipificación demostraron, en ambos gatos con LCTB, la presencia de *M. bovis* espilogotipo SB0140. En el ternero 1 se observaron LCTB en LNs traqueobronquiales y mediastínicos caudal. En el ternero 2 se observaron LCTB en LNs traqueobronquiales, mediastínicos medios y caudal y lóbulo diafragmático del pulmón derecho. En ambos terneros, la histopatología reveló lesiones granulomatosas en coincidencia con los sitios de lesiones macroscópicas. El ternero 1 fue negativo al cultivo bacteriológico mientras que en el ternero 2 se pudo aislar e identificar *M. bovis* espilogotipo SB0140.

La IA de TB en terneros expuestos a los gatos y en terneros no expuestos a los gatos fue 17% (24/140) y 26% (30/113), respectivamente. No se encontró asociación entre la ocurrencia de TB en terneros y la exposición a los gatos ($P = 0,0695$). Estos resultados, sugieren que los gatos no tendrían un rol importante como fuente de infección para los terneros. Otros factores no investigados en este estudio estarían implicados en la transmisión de TB a las terneras de crianza artificial.

Sin embargo, el hallazgo de TB en gatos domésticos alerta sobre el potencial riesgo zoonótico que representan para las personas que trabajan en zonas rurales. La infección por un mismo espilogotipo de *M. bovis* en terneros y en gatos sugiere la exposición a una fuente de infección común. En este estudio, no es posible establecer si la infección en los gatos precedió a la infección en terneros o viceversa. La distribución de LCTB sugieren una transmisión de *M. bovis* por vía aerógena (aerosoles). Probablemente, el sustituto lácteo suministrado a los terneros podría atraer a los gatos y propiciar el acercamiento necesario para la transmisión de la infección por vía aerógena.

Conclusiones

Un mismo espilogotipo de *M. bovis* infectó a terneros y a gatos domésticos en un rodeo lechero. El riesgo de TB en terneros no estuvo asociado con la exposición a los gatos.

Bibliografía

- Monies, R.J., Rule, B., Cranwell, M.P., Palmer, N., Inwald, J., Hewinson, R.G., 2000. Bovine tuberculosis in domestic cats. *Veterinary Record* 146, 407.
- Kamerbeek, J., Schouls, L., Kolk, A., van Agterveld, M., van Soolingen, D., Kuijper, S., Bunschoten, A., Molhuizen, H., Shaw, R., Goyal, M., van Embden, J., 1997. Simultaneous detection and strain differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* for diagnosis and epidemiology. *J Clin Microbiol* 35, 907-914.
- León, E., Duffy, S. Programa de Muestreo Estadístico en Sanidad Animal (ProMESA). 2010. *Anales 39º Jornadas Argentinas de Informática: Congreso Argentino de Agroinformática*. ISSN 1852-4850, pág. 807-817. Buenos Aires.

E2- Encuesta serológica de brucelosis caprina en la provincia de Santa Fe: Resultados preliminares.

S. Palmero¹, N. Aguirre², V. Orcellet¹, S. Torioni², V. Vanzini²

¹ Fac. de Cs. Vet., UNL. Rdo. P. L. Kreder 2805, CP 3080 – Esperanza, Sta. Fe. spalmero@unl.edu.ar

² INTA EEA Rafaela. Ruta 34 km 227, CP 2300 – Rafaela, Sta. Fe.

Introducción

La *Brucella melitensis* es el agente causal de la brucelosis caprina. La enfermedad está presente en las provincias de Mendoza, San Juan, La Rioja, Catamarca, noroeste de San Luis y Chaco, este de Salta, centro-oeste de Formosa (Robles y col., 2014; Russo y col., 2016). La distribución y prevalencia dentro de una misma provincia no es homogénea alternando entre áreas de prevalencia escasa o nula a zonas con moderada a alta prevalencia. Hasta el presente no hay evidencia de la presencia de brucelosis caprina en Santa Fe. En el presente trabajo se describen los resultados serológicos de brucelosis en majadas caprinas de la provincia de Santa Fe.

Materiales y métodos

Durante los años 2014–16 se realizó un estudio de brucelosis en caprinos (n=2869) provenientes de 117 majadas de los departamentos 9 de Julio (N=47), Vera (N=24), Gral. Obligado (N=26), San Cristóbal (N=7), Castellanos (N=2), Las Colonias (N=4), San Justo (N=1), La Capital (N=3), San Jerónimo (N=2) y Gral. López (N=1).

De cada majada se obtuvieron muestras de sangre de 30 caprinos o la totalidad, cuando el número de animales de la majada era inferior. Se excluyeron los menores de tres meses. Las muestras de suero se analizaron mediante las pruebas de aglutinación en placa con antígeno tamponado (BPA) utilizada como prueba tamiz y fijación de complemento (FC), como prueba confirmatoria (Nicola y Elena, 2009; SENASA, Col. 438/06). Se utilizó un diseño de muestreo en dos etapas. Los cálculos se realizaron con el programa ProMESA v1.2 (León y Duffy, 2003)

Resultados y conclusiones

De las muestras analizadas 29 resultaron positivas a BPA, pero todas negativas a FC. De acuerdo a los resultados obtenidos en la primera etapa, no existen indicios que sugieran la presencia de brucelosis caprina en la provincia. Se considera apropiado incrementar el número de majadas a muestrear para consolidar los resultados observados.

Distribución espacial de las majadas caprinas analizadas en la provincia de Santa Fe.



A. Nicola y S. Elena. Manual de diagnóstico serológico de la brucelosis bovina. Versión 3.0. Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA). 2009, pp 95.

A. Russo, O. Mancebo, C. Monzón, J. Gait, R. Casco, S. T. de Echaide. Epidemiología de la brucelosis caprina y ovina en la provincia de Formosa, Argentina. Rev. Arg. Microbiol. 2016; 48:147-153.

C. Robles, A. Gaido, E. Späth, S. T. de Echaide, V. Vanzini, G. Zielinski, D. Aguirre, L. Samartino, C. Rossanigo. Brucelosis caprina en Argentina. Ediciones INTA, 2014, ISBN 978-987-521-557-3.

E3- LEPTOSPIROSIS: RESULTADOS SEROLÓGICOS, BACTERIOLÓGICOS Y MOLECULARES

Francois Silvina, Petrakovsky Jessica, Koval Ariel, Farace María Isabel, Tealdo Marta, Draghi Graciela,

Brihuega Bibiana

Comisión Científica Permanente de Leptospirosis, AAVLD email: brihuega.bibiana@inta.gob.ar

Introducción: La leptospirosis es una enfermedad infectocontagiosa que afecta a los animales de producción, silvestres y de compañía pudiendo transmitírsela al hombre, es por esto una zoonosis muy importante en nuestro país, endémica con brotes epidémicos. En bovinos como en pequeños rumiantes los animales jóvenes nacen débiles y mueren. En los últimos años se produjeron muertes de terneros de cría como consecuencia de la infección por *L. interrogans* serovar Pomona (Draghi et al., 2011). En las pjaras produce abortos, fetos momificados y lechones débiles. En animales de compañía como los caninos, da cuadros agudos con diarrea, vómitos, deshidratación, ictericia, en algunos casos pudiendo llegar a la muerte; o casos crónicos dejando secuelas renales irreversibles. Hay factores importantes a tener en cuenta, la eliminación de leptospirosis con la orina de los animales infectados y la supervivencia de estas bacterias fuera del organismo (Brihuega 2011). No sólo es importante para la salud animal sino también para la Salud Pública.

Objetivo: La Comisión Científica Permanente de Leptospirosis, dependiente de la Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico tiene por objetivo difundir los datos obtenidos en sus estudios, resultado de los diagnósticos serológicos, bacteriológicos y moleculares.

Materiales y Métodos:

Se utilizó para el estudio la técnica de microaglutinación, MAT, dilución inicial 1/50 humanos, 1/100 caninos, porcinos y pequeños rumiantes y 1/200 bovinos. Se enfrentaron a las serovariedades referenciales de cada especie. Lectura post-incubación en microscopio de campo oscuro a 160 X. Para el diagnóstico bacteriológico se sembró riñón y orina en medios especiales para leptospira, EMJH y Fletcher y se llevó a incubación en estufa de 30 C.. Se ejecutó la técnica PCR en muestras utilizando los primers G1 y G2. Se seleccionó la técnica molecular Variable Number Tandem Repeats para obtener el perfil genético de los aislamientos.

Resultados: En caninos se obtuvieron los siguientes resultados: sobre 235 sueros enfrentados con MAT el 17 % fueron seropositivos. Las serovariedades intervinientes fueron *Leptospira interrogans* serovar Canicola, *Leptospira interrogans* serovar Icterohaemorrhagiae. En animales de producción sobre 5840 sueros bovinos se encontró un 36 % de seropositivos. Las serovariedades intervinientes: *Leptospira interrogans* serovar Wolffi, *Leptospira interrogans* serovar Hardjo, *Leptospira interrogans* serovar Pomona. En pequeños rumiantes, 344 sueros dieron 15 % seropositivos a *Leptospira interrogans* serovar Pomona. En porcinos el 27 % fueron positivos, serovars reaccionantes Pomona e Icterohaemorrhagiae. Las PCR realizadas en muestreos caninos detectaron casos positivos con correlación serológica. Los aislamientos logrados a partir de orina y riñón de bovinos de cría y de tambo fueron identificados como *Leptospira interrogans* serovar Pomona.

La identificación molecular realizada con la técnica molecular Variable Number Tandem Repeats para obtener el perfil genético

de los aislamientos dió perfiles con 100 % de correlación frente a las cepas referenciales.

En el caso de humanos, sobre 298 casos sospechosos, 278 sexo masculino y 20 sexo femenino fueron seroractivos. Las serovariedades intervinientes Ballum, Canicola, Pomona e Icterohaemorrhagiae.. Fueron casos provenientes de las provincias de Buenos Aires, Salta, Corrientes, Córdoba y Ciudad Autónoma de Buenos Aires.

Discusión

La leptospirosis está ampliamente difundida, y las condiciones climáticas colaboran con su sobrevivencia.

Es una enfermedad a tener en cuenta de presentación polimórfica, de difícil erradicación que se puede controlar a través de la información, las medidas higiénico sanitarias y la vacunación.

Palabras claves: diagnóstico serológico, bacteriológico, molecular, leptospirosis

Referencias

Farace María Isabel: Laboratorio de Bacteriología, Instituto Carlos Malbrán

Francois Silvina: Facultad de Veterinaria, Universidad Nacional de Rosario

Petrakovsky Jessica: Laboratorio de Leptospirosis, Referencia OIE- SENASA

Tealdo Marta: Instituto de Zoonosis Luis Pasteur

Koval Ariel: Laboratorio Biogénesis Bagó

Draghi Graciela: Excoordinadora del Programa Nacional de Sanidad Animal- INTA

Brihuega Bibiana: Coordinadora Comisión Científica Permanente de Leptospirosis, AAVLD- Laboratorio de Leptospirosis, Referencia OIE, Instituto de Patobiología CICVyA- INTA Castelar.

Referencia Bibliográfica: Draghi G, Brihuega B., Benitez D., Sala J.M., Biotti G. M., Pereyra M., Homse, Guariniello L.. 2011 Brote de leptospirosis en terneros en cría en la provincia de Corrientes, Argentina. *Rev. Arg Microbiol.* 43: 42-44.

E4- NEOSPOROSIS BOVINA: ESTATUS DE INFECCIÓN DEFINIDO POR IFI Y cELISA EN MUESTRAS DE SUERO OBTENIDAS PERIÓDICAMENTE DE VACAS LECHERAS

B. Valentini, E. Primo, S. Torioni de Echaide, I. Echaide.
INTA EEA Rafaela CC 22, 2300 Rafaela, Santa Fe. valentini.beatriz@inta.gov.ar

Introducción

La neosporosis causada por *Neospora caninum* es una enfermedad global que afecta a diferentes especies de animales domésticos y silvestres. En bovinos puede causar abortos y ocasionalmente nacimiento de terneros con lesiones neuromusculares. Es frecuente el nacimiento de terneros clínicamente sanos, aunque infectados. La forma endémica de la enfermedad está asociada a abortos esporádicos en rodeos donde es frecuente la transmisión congénita. La forma epidémica, menos frecuente, se manifiesta como "tormenta de abortos" y sería consecuencia de infecciones posnatales (horizontales)¹. La identificación de animales infectados se realiza principalmente a través de la detección de anticuerpos contra *N. caninum*. Inmunofluorescencia indirecta (IFI) fue la prueba de diagnóstico serológico más utilizada y ha sido considerada como la técnica de referencia para evaluar otras pruebas como ELISA-i y cELISA^{2,3}.

El objetivo de este trabajo fue comparar la eficiencia de IFI y cELISA-R desarrolladas "in-house" para determinar el estatus de infección de neosporosis bovina en vacas monitoreadas durante 3 años.

Materiales y métodos

Para este estudio se analizaron muestras de suero de 87 vacas de un rodeo lechero de la cuenca central de Argentina con antecedentes de abortos causados por neosporosis bovina. Se tomaron 2-5 muestras por animal, con intervalos que variaron entre 5 y 10 meses durante 3 años (Tabla 1).

Tabla 1. Neosporosis bovina: número de muestras de suero de 87 vacas analizadas mediante IFI y cELISA-R, y distribuidas por frecuencia.

Vacas (n)	Muestras / vaca (n)	Total de muestras (n)
19	5	95
37	4	148
27	3	81
4	2	8
87		332

El antígeno se basó en taquizoitos de la cepa NC1, multiplicados *in vitro* y purificados mediante un gradiente de Percoll. Para IFI, una suspensión de 10^7 taquizoitos fue titulada para visualizar 50-100 taquizoitos por campo microscópico. Para cELISA-R, los taquizoitos se sonicaron, y la suspensión resultante se centrifugó a 20.000 xg. El sobrenadante con el antígeno solubilizado se distribuyó a razón de 1µg/celda de placas de 96 (Polysorp). Los sueros para diagnóstico y controles se evaluaron sin diluir. Se utilizó un anticuerpo monoclonal (AcM), RafNeo5, conjugado con peroxidasa. El AcM fue generado mediante la inoculación de ratones Balb/c con antígeno solubilizado de la cepa NC1, siguiendo un protocolo convencional. Como sustrato-cromógeno se usó H₂O₂-ABTS, la reacción se frenó con SDS al 4% y la lectura se realizó a 405 nm. Los resultados de IFI se expresaron en dilución⁻¹ y para cELISA-R en porcentaje de inhibición (%I). Valores $\geq$ a 200 para IFI y 25%I para cELISA-R fueron considerados positivos.

Resultados

El 81,6% (n=71) de los sueros mostró resultados coincidentes entre IFI y cELISA-R. A su vez 47 (66,1%) y 24 (33,8%) sueros resultaron consistentemente positivos o negativos, respectivamente a través de los 3 años de estudio. Esto permitió establecer el estatus de neosporosis de los bovinos estudiados. Los %I de cELISA-R mostraron una notable polarización entre positivos y negativos. Un total de 16 vacas, 8 con cinco muestreos, 6 con cuatro y 2 con tres, mostraron niveles de anticuerpos fluctuantes entre valores positivos y negativos por IFI, mientras que 8 de esas vacas resultaron consistentemente positivas por cELISA-R (Tabla 2). De las 8 vacas restantes 4 mostraron seroconversión positiva por ambas pruebas serológicas y en dos casos, IFI pudo detectar la seroconversión antes que el cELISA-R.

Tabla 2. Estatus de neosporosis en vacas lecheras, definido por IFI y cELISA-R en 2 a 5 muestras de suero obtenidas periódicamente durante de 3 años.

Estatus serológico	IFI (n)	cELISA-R (n)	Estatus de infección
Consistentemente positivo	47	55	Infectado
Consistentemente negativo	24	24	No infectado
Variable	16	8	No definido

El 86% de las vacas tuvo idéntico estatus de infección por IFI y cELISA-R. La concordancia entre pruebas para las muestras analizadas fue 94%, con kappa: 0,861; error estándar: 0,0325 e intervalo 95%C: 0,798-0,925.

Discusión y conclusiones

cELISA-R permitió detectar anticuerpos específicos contra *N. caninum* en forma sostenida sobre el punto de corte, y los %I se mantuvieron estables. Mediante IFI no fue posible detectar las vacas potencialmente infectadas en todos los muestreos, resultado que también había sido observado por ELISA-i e IFI. A través de los resultados obtenidos se puede inferir que la transmisión horizontal no fue la principal vía de infección por *N. caninum* en el rodeo, a partir de la observación de que sólo el 4,5% de las vacas seroconvirtieron según los resultados las dos pruebas serológicas. cELISA-R, estaría disponible en breve para su preferencia y evaluación en distintos laboratorios del país.

Proyecto INTA: PNSA 1115053.

Referencias

- 1- Dubey, J.P., Schares, G., Ortega-Mora, L.M. 2007. Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. Clin. Microbiol. Rev. 20:323-67.
- 2- Echaide, I.E.; Valentini, B.; Torioni de Echaide, S. (2002) Neosporosis bovina: análisis seroepidemiológico de un hato lechero mediante IFA y ELISA. In: Mem. XIV Reunión Científica Técnica AAVLD, Villa General Belgrano, Córdoba, Argentina. 13-15/11/2002. Secc. Par-01.
- 3- Baszler, T. V., Adams, S., Vander-Schalie, J., Mathison, B.A., Kostovic, M. (2001). Validation of a commercially available monoclonal antibody-based competitive-inhibition enzyme-linked immunosorbent assay, for detection of serum antibodies to *N. caninum* in cattle. Clin. Microbiol. 39: 3851-57.

E5- RELEVAMIENTO SANITARIO EN BOVINOS PARA CARNE DE ISLAS Y COSTA DE TRES DEPARTAMENTOS DE LA ZONA CENTRO-LITORAL DE SANTA FE. PRIMERA ETAPA.

I.Echaide¹, N. Aguirre¹, C. Thompson¹, M. Ferreira¹, J. Pane², A. Bugnón³, M. Signorini¹, B. Valentini¹, Primo, E¹, S. Torioni de Echaide¹.

¹INTA EEA Rafaela CC 22, 2300 Rafaela, Santa Fe. ²INTA AER San Javier. Sta. Fe. ³Médico Veterinario Asesor Privado. echaide.ignacio@inta.gob.ar

Introducción

La cría de bovinos en las islas del río Paraná se caracteriza por la utilización de pasturas naturales, con inversión mínima en instalaciones, escaso control sanitario, y manejo con mínima planificación. El manejo está fuertemente condicionado por las periódicas inundaciones, que motivan el transporte de animales a la región costera durante períodos variables. Los Médicos Veterinarios intervienen principalmente en las emergencias, lo que dificulta la obtención de datos en forma regular. La escasa información de las enfermedades presentes en la zona y las dificultades para realizar un manejo racional de los rodeos, afectan el diagnóstico y control, particularmente de aquellas que disminuyen la eficiencia reproductiva. Como consecuencia, es difícil estimar las pérdidas económicas, información que ayudaría a un cambio de paradigma.

Para conocer la situación actual de algunas enfermedades, se realizó un relevamiento sanitario en la zona Centro Litoral de la provincia de Santa Fe, enfocado a establecer la presencia y prevalencia de las principales enfermedades que afectan directa o indirectamente la reproducción.

Materiales y métodos

La región de islas y costa seleccionada para realizar este relevamiento corresponde a los departamentos Garay, La Capital y San Jerónimo de la provincia de Santa Fe, con una población de ~438.000 bovinos, de los cuales ~158.000 pertenecen a la categoría vacas de cría. Se estima que alrededor del 15% de las vacas pasan alguna etapa de su vida en "condiciones de isla". En el relevamiento sanitario se incluyeron siete enfermedades que afectan directamente la reproducción, y dos (anaplasmosis y paratuberculosis) por su relevancia y carácter expansivo en la zona, aunque tienen un efecto indirecto sobre la reproducción (Tabla 1). Se tomaron 2905 muestras de sangre con (4,5 ml) y sin (15 ml) anticoagulante, de bovinos para carne de 60 rodeos. Se incluyeron hembras ≥2 años de edad y 207 toros de los que se obtuvieron muestras de esmegma prepucial usando 2 raspadores con espiga de látex por animal. Las células se sembraron en los medios de transporte de Thomann (*Campylobacter* spp.), y Diamond (*Trichomonas foetus*). El muestreo se acompañó de una encuesta sobre aspectos generales, parámetros reproductivos, enfermedades identificadas y vacunas usadas. También se incluyeron protocolos para la obtención adecuada de cada tipo de muestra. Las pruebas para diagnóstico usadas para cada enfermedad se detallan en la tabla 1.

Tabla 1. Enfermedades relevadas en bovinos para carne de los departamentos de San Jerónimo, La Capital y Garay (Santa Fe), y pruebas serológicas utilizadas.

Enfermedades analizadas	Pruebas utilizadas
Anaplasmosis bovina	ELISA-c; ELISA-s
Brucelosis bovina	F. de complemento
Campylobacteriosis genital bovina	PCR; cultivos; IFD
Diarrea viral bovina, BVD	ELISA-i; IFI
Leptospirosis bovina ¹	Microaglutinación
Neosporosis bovina	ELISA-c; IFI
Paratuberculosis bovina	ELISA-i
Rinotraqueítis infecciosa bovina, IBR	ELISA-i; IFI
Trichomonosis genital bovina	PCR; cultivos

¹ Instituto de Patobiología/Bacteriología CNIA-INTA Castelar

Resultados

Todas las enfermedades estudiadas, se encontraron en la zona relevada, con distinto grado de prevalencia (Tabla 2). Las encuestas no han sido exhaustivamente analizadas en esta primera etapa. Sin embargo se destaca la falta de registro de parámetros reproductivos, la ausencia de servicios estacionados, la falta de controles periódicos de reproductores. También la aplicación de la vacuna contra brucelosis (Plan Nacional), y el uso masivo de vacunas contra IBR y BVD.

Tabla 2. Resultados preliminares de la prevalencia observada para diferentes enfermedades analizadas mediante un muestreo sobre 60 rodeos relevados en la región de costa e islas de los departamentos Garay, La Capital y San Jerónimo (Santa Fe).

Enfermedades	Rodeos (n)	%	Bovinos (n)	%
Anaplasmosis bovina	60	62	1320	12,3
Brucelosis bovina	60	16	1320	0,9
Campylobacteriosis genital	53	30	207	14,0
Diarrea viral bovina	60	97	1320	47,9
Leptospirosis bovina	60	70	1301	14,5
Neosporosis bovina	60	100	1320	34,5
Rinotraqueítis infecciosa	60	100	1320	78,7
Paratuberculosis bovina	60	72	1320	9,3
Trichomonosis genital bovina	53	15	207	6,3

Discusión y conclusiones

Las enfermedades detectadas en la zona centro-litoral Santa Fe, han sido previamente diagnosticadas en el resto de la provincia. Un resultado esperado por la interacción entre rodeos de islas y área continental. Los niveles de neosporosis son similares a los descriptos para ganado lechero de la cuenca central. La aplicación sistemática de la vacuna para el control de IBR y DVB explicaría en parte los elevados valores de prevalencia observados. La prevalencia de brucelosis es similar a la encontrada en el departamento San Jerónimo (0,8%) y refleja la acción de la campaña nacional de control, con valores de prevalencia propicios para la erradicación. La difusión de la leptospirosis confirma su endemidad y riesgo potencial de generar casos agudos en pocos rodeos. Anaplasmosis surge como un problema de alto riesgo para los rodeos de la zona y se debería implementar la vacunación. La distribución de paratuberculosis, es similar a la detectada en rodeos de cría de Santa Fe, y contrasta con la escasa identificación de casos clínicos. La trichomonosis y campylobacteriosis deberán ser motivo de un plan para su control y erradicación por el efecto negativo sobre la eficiencia reproductiva.

Colaboración: 12 Médicos Veterinarios de la práctica privada.

Referencias

- Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. World Organization for Animal Health (OIE). Chapters 2.1.9; 2.4.3./5./8./13./16 Vol I. 2012.
- Ministerio de la Producción Santa Fe (2010). Sistema Sanitario Productivo y Participativo. Caracterización del rodeo bovino y distintos sistemas productivos en Santa Fe. Ministerio de la Producción, Santa Fe. 9-60.

E6- PREVALENCIA DE PARATUBERCULOSIS BOVINA EN RODEOS DE CRÍA DEL DEPARTAMENTO SAN CRISTÓBAL (SANTA FE) ARGENTINA (RESULTADOS PRELIMINARES)

A Abdala^{1*}; N Aguirre¹; E Luca^{2,3}; G Storani³; S Torioni de Echaide¹.

1 EEA INTA Rafaela, 2 FCV –UNL, 3 Actividad privada.
abdala.alejandro@inta.gob.ar

Introducción

La Paratuberculosis (PTB) es una enfermedad crónica granulomatosa del tracto gastrointestinal de rumiantes y otras especies, causada por *Mycobacterium avium* ssp. *Paratuberculosis* (MAP). Cuando afecta a los bovinos los síntomas se manifiestan en la edad adulta, ocasionando cuadros de diarrea crónica severa y pérdida de la condición corporal. En Argentina la enfermedad ha sido descrita en los rodeos bovinos de diferentes provincias. En Santa Fe ha sido observada esporádicamente en rodeos lecheros, y existe muy poca información en rodeos de cría. En un relevamiento serológico realizado en tambos del departamento Castellanos se encontró una prevalencia del 3% en vacas y un 39% de los rodeos presentaron bovinos positivos por ELISA. El objetivo del trabajo fue estimar la prevalencia de PTB en rodeos de cría del departamento San Cristóbal (Santa Fe) que es el que mayor stock de bovinos concentra en esta provincia.

Materiales y Métodos

Se diseñó un muestreo en base a los 1489 rodeos de cría registrados en el departamento San Cristóbal, con una prevalencia de PTB estimada del 5% para rodeos y del 1% para bovinos, con un 95% de confianza y error del 5% (Win Episcopo). El diseño determinó el estudio de 70 establecimientos, con un mínimo de 20 vacas por rodeo. Las muestras de suero se obtuvieron a través de dos laboratorios privados de la Red del SENASA de brucelosis, en los que se hacía la selección al azar de las muestras correspondientes a vacas adultas y de las alícuotas de sus sueros. De cada rodeo se brindó información sobre el distrito de origen, diagnóstico o sospecha de PTB y ocurrencia de ingresos de reproductores bovinos. Las muestras se conservaron a - 20°C hasta su procesamiento. Se utilizó un kit de ELISA comercial (ID Vet Screen Paratuberculosis indirect 1653-RD) para la detección de anticuerpos contra MAP en suero bovino. Se consideró positivo a la muestra que superara el 70% (punto de corte) de la relación S/P (muestra/ control positivo) indicado por el kit de diagnóstico, según la fórmula siguiente:

$$\frac{DO \text{ muestra} - DO \text{ control negativo}}{DO \text{ control positivo} - DO \text{ control negativo}}$$

$$\times 100$$

$$DO \text{ control positivo} - DO \text{ control negativo}$$

Resultados

Hasta el momento se analizaron 1360 muestras de suero correspondientes a 68 rodeos, distribuidos en doce distritos del departamento San Cristóbal. Se obtuvieron datos sobre presentación de casos clínicos e ingreso de reproductores en 43 rodeos, de los cuales solo dos reconocieron la existencia de casos clínicos, 31 manifestaron que no ingresaron reproductores y 12 lo hacían habitualmente.

Los resultados del muestreo serológico se presentan en la Tabla 1. Del total de rodeos positivos a PTB (n=50), 21 tenían un sólo animal reaccionante, 9 tenían dos y 20 presentaron tres o más bovinos positivos.

En solo uno de los rodeos que presentaba antecedentes de PTB se encontraron positivos a PTB.

Tabla 1: Estudio serológico (ELISA) de PTB en bovinos de cría del departamento San Cristóbal, Santa Fe.

	n	Positivos (%)	Negativos (%)
Rodeos	68	73,5	26,5
Bovinos	1360	10,5	89,5

Discusión y Conclusión

Los resultados serológicos obtenidos indicarían una prevalencia elevada de rodeos y de bovinos con PTB. Sin embargo estos resultados contrastan con el poco o nulo diagnóstico de la enfermedad realizado por los veterinarios asesores responsables de la sanidad de los rodeos. Posiblemente el carácter extensivo de estas explotaciones y el desconocimiento de la enfermedad por parte de los productores, dificulte el diagnóstico de los casos clínicos y la identificación de las causas de muerte que en muchos casos pasan desapercibidas.

El kit comercial de ELISA utilizado no ha sido validado en Argentina, por lo que es indispensable la confirmación de la presencia de PTB en los rodeos de cría de la zona estudiada. A pesar de ello ELISA es una herramienta útil de aplicación masiva que permite dar información sobre la dispersión de la PTB, ya que el aislamiento de MAP se hace impracticable para el diagnóstico en gran escala. Se debería contar a nivel nacional con un programa de control de PTB que incluya en una primera etapa a todas las cabañas de reproductores, a fin de evitar su difusión a nuevos rodeos con el movimiento de estos animales.

Bibliografía

-Sistema Sanitario Productivo y Participativo Año 2010. Secretaría de Sistema Agropecuario, Agroalimentos y Biocombustibles. Provincia de Santa Fe. Argentina. pp 96
- Abdala A., Aguirre N., Signorini M., Storero R., Torioni de Echaide S. Prevalencia de paratuberculosis en tambos del Departamento Castellanos (Santa Fe) Argentina (Resultados Preliminares). V Jornadas Científicas y reunión Anual de la Asociación Argentina de Inmunología Veterinaria. 18 y 19 de octubre de 2012, Esperanza, Santa Fe – Argentina

E7- PREVALENCIA DE BRUCELOSIS CAPRINA EN LA REGION CHAQUEÑA DE SALTA

R.D. Neumann^{1*}, A.O. Salatin¹, C.B. Rossetto², D.H. Aguirre¹, H.S. Cortez¹, E.A. Berton¹, V.H. Suárez¹,
R. Marínconz³, G. Grossberger³, M.J. Ferreyra⁴, A.B. Gaido^{1*}

¹Área de Salud Animal INTA-IIACS-CIAP. ²OIT INTA La Unión.

³Secretaría de Agricultura Familiar. ⁴Banco de Germoplasma INTA EEA Salta

*E-mail: neumann.roberto@inta.gov.ar

INTRODUCCIÓN

La brucelosis (*Brucella melitensis*) es una de las enfermedades bacterianas más importantes en caprinos, la cual presenta una amplia distribución a nivel mundial y nacional. Provoca disminución en la eficiencia reproductiva por los abortos que induce y por orquitis/artritis en los machos. Es una de las zoonosis de mayor interés veterinario y para la salud pública¹.

A fines de la década del '70, se realizó un relevamiento serológico en el Departamento salteño de Rivadavia, que evidenció el carácter endémico de la enfermedad en la zona². Un trabajo reciente efectuado en Departamentos de la provincia de Formosa adyacentes a Salta, mostró también la presencia de brucelosis caprina, aunque con una situación epidemiológica heterogénea³.

En el ámbito nacional, SENASA reglamentó la vacunación a niveles departamentales en las provincias de Mendoza, San Juan, Catamarca y Salta⁴. En esta última se realizó en 2011 un plan piloto de vacunación. La Disposición del SENASA para la provincia de Salta establece la vacunación total contra brucelosis de los caprinos de los Departamentos Anta, Rivadavia y San Martín, pero la misma está pendiente de ejecución. Estos Departamentos, sumados a los de La Candelaria, Metán, Orán y Rosario de Frontera, corresponden a la Ecorregión del Chaco Seco, vasta planicie con suave pendiente hacia el Este⁵.

La producción caprina adquiere importancia en esta región, con sistemas ganaderos de tipo extensivo, mayormente a campo abierto, compartiendo el ambiente con otras especies de interés pecuario. La mano de obra para el manejo de los caprinos es familiar, a cargo sobre todo de mujeres y niños, principal blanco de esta zoonosis.

Este trabajo presenta los resultados de encuestas serológicas sobre brucelosis caprina realizadas en dicha región durante un lapso de aproximadamente ocho años.

MATERIALES Y MÉTODOS

Entre agosto de 2007 y marzo de 2015 se efectuó un muestreo serológico por conveniencia en la región Chaqueña de la provincia de Salta, con el fin de determinar la distribución espacial y prevalencia de la brucelosis caprina. En la Tabla 1 se detalla el número de majadas y caprinos muestreados en los cinco Departamentos evaluados. Los sueros se procesaron por la prueba tamiz del antígeno bufferado en placa (BPA) y alternativamente por las pruebas confirmatorias de fijación del complemento (FC) y de polarización fluorescente (FPA). Todos los establecimientos fueron georreferenciados mediante GPSGarmin®, información empleada para elaborar un mapa de distribución utilizando el software DIVA-GIS.

Tabla 1. Número de majadas y muestras de caprinos según sexo tomadas por cada Departamento.

Departamento	Majadas	Hembras	Machos	Total
Anta	72	1081	87	1168
Metán	4	65	0	65
Orán	9	146	16	162
Rivadavia	190	4623	314	4937
San Martín	12	220	17	237
Total	287	6135	434	6569

RESULTADOS

En la Tabla 2 se informa la prevalencia de brucelosis caprina a nivel de majada e individual en los cinco Departamentos evaluados. Los rangos de prevalencia individual a nivel de majadas variaron entre 4 y 9,1% en Orán y entre 0,7 y 75% en Rivadavia.

Tabla 2. Número de majadas y caprinos positivos a brucelosis caprina y porcentajes de prevalencia por cada Departamento.

Departamento	Majadas positivas	Prevalencia en las majadas	Caprinos positivos	Prevalencia individual
Anta	1	1,38	1	0,85
Metán	0	0,00	0	0,00
Orán	2	18,00	3	1,85
Rivadavia	44	23,15	419	8,48
San Martín	0	0,00	0	0,00
Total	47	16,37	423	6,43

DISCUSIÓN

Los resultados confirman la presencia de brucelosis caprina en la región Chaqueña de Salta. Aun así, y soslayando la falta de diseño estadístico del muestreo, la distribución espacial de seroreactores por Departamento fue disímil. El muestreo más extenso correspondió a Rivadavia y Anta, pero fue reducido en los restantes Departamentos. Ello se debió, entre otras razones, a la gran extensión y el escaso desarrollo vial de la región Chaqueña de Salta. Rivadavia mostró la mayor prevalencia individual, con amplio rango de variación entre majadas. Orán fue otro Departamento con prevalencia significativa, al menos a nivel de majada, si bien como resultado de un muestreo reducido. Es de observar que este Departamento no está incluido en la Resolución de vacunación del SENASA. Contrariamente, si lo está el Departamento Anta, uno de los más extensos de la provincia, que tuvo un solo caprino seropositivo entre más de mil evaluados. Tampoco San Martín (incluido en la Resolución) ni Metán exhibieron presencia de seroreactores a brucelosis aunque, nuevamente, fueron Departamentos con escaso muestreo. Otros Departamentos de la región, como Rosario de la Frontera y La Candelaria, quedaron fuera del muestreo. La heterogeneidad de la situación epidemiológica plantea la necesidad de muestreos más extensos para caracterizar con mayor precisión a toda la región y permitir la definición de sus unidades epidemiológicas (zonificación). Esto posibilitaría la eventual aplicación de estrategias diferentes para el control o erradicación de la enfermedad, contribuyendo a morigerar las pérdidas económicas que produce, pero también su impacto sobre una población de escasos recursos, atención sanitaria deficitaria y distante de los centros urbanos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Rodolakis, A. 2014. Zoonosis in goats: How to control them. Small Rum. Res. 121: 12-20
2. Condron, R.J.; Späth, E.J.; Ríos, L.G. de; González, R.N.; Häbich, G.E.; Bisceglia, L.; Córdoba, S.; Rivero, M.; Jiménez, J.; Kühne, G.; Guglielmone, A.A.; Herrera, C.; Benítez, E.N.; Salem, E.A.; Fortuny, N. 1980. Brucelosis caprina y humana en el Departamento Rivadavia, provincia de Salta, Argentina. Bol. Of. Sanit. Panam. 88: 432-439.
3. Russo, A.; Mancebo, O.; Monzón, C.; Gait, J.; Casco, R.; Torioni de Echaide, S. 2016. Epidemiología de la brucelosis caprina y ovina en la provincia de Formosa, Argentina. Rev. Arg. Microbiol. 48(2): 147-153
4. Robles, C.; Gaido, A.; Späth, E.; Torioni de Echaide, S.; Vanzini, V.; Zielinski, G.; Aguirre, D.; Samartino, L.; Rossanigo, C. 2014. Brucelosis caprina en la Argentina. Ediciones INTA, Colección Recursos, 29 pp.
5. Morello, J.; Matteucci, S.; Rodríguez, A.; Silva, M. 2012. Ecorregiones y complejos ecosistémicos argentinos. Orientación Gráfica Editora. pp 112-116 y 280-282

Agradecimientos. A todos los pequeños productores del Chaco salteño que colaboraron con este trabajo. A la Dra. Analía Gaido por su ejemplo de trabajo.

E8-FASCIOSIS EN BOVINOS DE DOS ECORREGIONES DE LA PROVINCIA DE SALTA

R.D Neumann^{1*}, A.E Viñabal¹, A.O.Salatín¹, M.M Cafrune¹, M.J Ferreyra²

¹Area de Sanidad Animal INTA-IIACS-CIAP ²INTA CICVyA ³INTA EEA Salta. ²Banco de Germoplasma INTA EEA Salta.

*E-mail: neumann.roberto@inta.gob.ar

INTRODUCCIÓN

La fasciolosis es uno de los mayores problemas sanitarios de origen parasitario en los rumiantes del noroeste argentino. El agente causal es el trematode *Fasciola hepatica*. Es una parasitosis de tipo crónico. En la provincia de Salta ha sido diagnosticada en diversos ambientes y especies^{1,2,3}. La zona montañosa del oeste provincial se caracteriza por el gradiente altitudinal que aumenta de este a oeste, una gran influencia de la orografía sobre el clima y la colindancia de diferentes ecorregiones, lo cual plantea una gran diversidad de ambientes⁴. En esta zona, la ganadería de rumiantes mayores y menores es extensiva, los campos de pastoreo son abiertos y compartidos entre distintas especies pecuarias. En el presente trabajo se describe la presencia de fasciolosis en bovinos de dos ecorregiones colindantes de la provincia de Salta. La Ecorregión de Monte de Sierras y Bolsones (Complejo de angostos valles exorreicos con cursos de agua con caudal permanente) y la Ecorregión Puna (Complejo Puna Árida)⁴. En ambas Ecorregiones, el tipo pluviométrico es árido o semidesértico, con precipitaciones estivales entre los 100-300 mm anuales. Las áreas de pastaje están dadas por las colchas, formadas por un tapiz de *Distichlis sp* (pasto salado o pasto puna), que crece en la vegas. El agua de bebida para consumo humano y animal es la misma, y es la que discurre por pequeños arroyos, algunos no permanentes, asociados a la presencia de vegas. Las vegas son terrenos bajos y llanos que eventualmente se inundan por agua proveniente de cursos cercanos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se tomaron 70 muestras individuales de materia fecal de bovinos de distintas categorías (terneros, vaquillonas y vacas), en seis establecimientos ubicados a la vera de la Ruta Nacional 51, departamento Rosario de Lerma, provincia de Salta. Tres de ellos ubicados en la Ecorregión de Monte de Sierras y Bolsones entre los 2500 y 2590 msnm (metros sobre el nivel del mar) y los restantes en la Ecorregión Puna, entre los 3150 a 3680 msnm. Los análisis se realizaron en el laboratorio de Salud Animal del IIACS-CIAP (EEA Salta). Las muestras se evaluaron mediante la técnica de sedimentación y tinción con azul de metileno⁵. Se agruparon en 16 pools con dos muestras por categoría, en forma separada por establecimiento. En dos de los rodeos no se obtuvieron muestras de vaquillonas. Se realizaron encuestas sobre parámetros sanitarios del rodeo y conocimiento previo de la enfermedad. Todos los establecimientos se georreferenciaron mediante GPSGarmin®. Para la elaboración del mapa de distribución se utilizó el software DIVA-GIS.

RESULTADOS

Se determinó la presencia de huevos de *Fasciola hepatica* en todos los pools de muestras, arrojando un 100% de prevalencia a nivel de rodeo y la ocurrencia de fasciolosis en todas las categorías de bovinos. La técnica en sí, es cuantitativa, pero el hecho de haber realizado un pool de muestra, hizo que solo se tuviera en cuenta como técnica cualitativa. Las encuestas demostraron que todos los productores conocían al parásito, ya que faenan sus propios animales y lo visualizan en el hígado de los mismos. Lo denominan con el nombre vulgar de "lampazo". Realizan tratamientos antiparasitarios con cierta regularidad, pero sin el adecuado asesoramiento, y aplicando drogas sin acción fasciolicida. Los productores desconocen el potencial e importancia zoonótica de la fasciolosis.

DISCUSIÓN

La presencia del parásito en todos los sitios de muestreo, y en todas las categorías de bovinos reafirma la importancia de la fasciolosis bovina como un problema sanitario. La fasciolosis es una parasitosis de curso crónico, y la presencia de huevos en categorías menores pone de manifiesto la elevada oferta de formas infestantes en el ambiente. Esto puede explicarse por lo árido del

ambiente, y que la escasa oferta forrajera se encuentra asociada a cursos de agua superficiales (vegas), el cual es el ambiente propicio para la multiplicación del huésped intermediario del ciclo parasitario, caracoles del género *Lymnea*. El hecho de haberlo encontrado en dos Ecorregiones distintas, aporta información sobre su amplia distribución geográfica¹. El desconocimiento de los productores del impacto que tiene sobre la producción y su potencial zoonótico, el uso de tratamientos sin un adecuado asesoramiento, y la condición de pequeños productores pone de manifiesto la necesidad de implementar políticas regionales y locales con participación de entes nacionales y provinciales, para la capacitación en problemáticas sanitarias que afectan a los rodeos. Considerando que el agua de uso humano y animal tienen el mismo origen, pone de manifiesto la probabilidad que existan casos humanos de fasciolosis, los cuales probablemente estén sin un diagnóstico adecuado o subdiagnosticados. Esto plantea la necesidad de realizar en el futuro estudios interdisciplinarios que aborden la problemática de manera integral

BIBLIOGRAFÍA

1. Dwinger, R.; Le Riche, P.; Kühne, G. 1982. Fascioliasis in beef cattle in north-west Argentina. Trop. Anim. Health Prod. 14:167-171.
2. Cafrune, M.; Rebuffi, G.; Cabrera, R.; Aguirre, D. 1996 *Fasciola hepatica* en llamas (*Lama glama*) de la Puna Argentina. Vet. Arg. 13:570-574.
3. Grossberger, G.; Viñabal, A.; Cafrune, M.; Suárez, V.; Aguirre, D. Evaluación coprológica de nematodiasis gastrointestinales y fasciolosis en pequeños rumiantes de la Quebrada del Toro. Salta. Res. 36° Cong. Arg. Prod. Anim. Corrientes, octubre 2013. p. 36.
4. Morello, J.; Matteucci, S.; Rodríguez, A.; Silva, M. 2012. Ecorregiones y complejos ecosistémicos argentinos. Orientación Gráfica Editora. pp 112-116 y 280-282
5. Viñabal, A.; Cafrune, M.; Aguirre, D.; Bassanetti, A.; Bertoni, E.; Suárez, V. 2015. Propuesta y evaluación de una técnica de sedimentación y tinción con azul de metileno (y de una variante) para el diagnóstico de *Fasciola hepatica*. Vet. Arg. Vol.32 n 327.

Agradecimientos

Al Sr. Guillermo Urbano de la Comisión Zonal de vacunación de aftosa Valle de Lerma Norte, por facilitar el contacto con los productores. A la Dra. Silvia Matteucci por el aporte de las capas de las Ecorregiones.

E9- SEROPREVALENCIA DE BRUCELOSIS EN CANINOS DE ESTUDIANTES DE MEDICINA VETERINARIA (UNRC)

V Martín¹; G Labari¹; M Richardet¹; M Fiorimanti¹; L Ulagnero¹; M Benavent¹; A. Bosque¹; L Espinoza¹; C Motta¹; C Vissio¹; G Bagnis¹.

¹Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto. vmartin@ayv.unrc.edu.ar

Introducción: La evaluación serológica de sujetos en riesgo de adquirir la infección por *Brucella spp.*, es una medida de interés en salud pública, por cuanto la enfermedad se relaciona principalmente con exposición ocupacional y por su difícil diagnóstico clínico y aislamiento para cultivo. Las probabilidades de que los estudiantes de Medicina Veterinaria adquieran ciertas zoonosis, aumenta conforme avanzan en la carrera, al tomar contacto directo con animales enfermos o portadores. Para identificar el riesgo asociado al contacto con perros potencialmente portadores de Brucelosis, se estableció como objetivo determinar la seroprevalencia a *Brucella spp.* en una población de caninos que conviven con estudiantes de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional de Río Cuarto.

Materiales y Métodos: Se realizó un estudio descriptivo observacional de tipo transversal, durante el periodo de abril a mayo del 2016. Se tomaron 5 ml de sangre de vena cefálica ante braquial. La muestra de sangre se introdujo en un tubo seco de donde se separó el suero que se conservó congelado a -20 °C hasta el momento de su utilización en pruebas serológicas. Los animales reaccionantes serológicos fueron nuevamente muestreados posteriormente inoculando 3 ml de sangre estéril en un frasco de hemocultivo más citrato, para realizar estudios bacteriológicos. Para detectar anticuerpos anti especies lisas (S) de *Brucella* (*B. abortus*, *B. melitensis* y *B. suis*) se realizó la prueba de aglutinación con antígeno tamponado (BPAT) descrita por Angus y Barton¹. Es la prueba tamiz oficialmente aceptada en la Argentina para el diagnóstico de brucelosis bovina y fue realizada de acuerdo a procedimientos estandarizados, con antígeno preparado por DILAB-SENASA. Para detectar anticuerpos anti especies rugosas (R) de *Brucella canis* los sueros fueron procesados mediante la Prueba de aglutinación rápida en portaobjeto (RSAT). Se utiliza como tamiz y se realizó de acuerdo a las recomendaciones de Carmichael y col.², incluyendo en cada portaobjeto un suero control positivo. El antígeno fue preparado en el DILAB-SENASA utilizando la cepa *B. canis M-*. Los hemocultivos de animales reaccionantes se incubaron 30 días a 37 °C, en atmósfera adicionada con 10% de CO₂ y semanalmente se efectuaron pases en placas de Agar Brucella con 5% de sangre. Se confeccionó una encuesta autoadministrada por los estudiantes y se adjuntó una ficha con datos del animal. La ficha contaba con los siguientes datos: nombre del animal, raza, sexo, edad, hábitos (domiciliario: animales

que sólo salen con el dueño y viven dentro del hogar; peri-domiciliario: animales que entran y salen del domicilio sin restricciones pudiendo tener contacto con otros caninos), enfermedades previas, antecedentes de abortos, orquitis, orqui-epididimitis, datos clínicos al momento de la muestra.

Resultados: De 72 muestras procesadas, 25 sueros reaccionaron de forma inespecífica frente a cepas lisas (BPA positivos), siendo corroborados por el resultado negativo de los hemocultivos. Por otro lado, en la búsqueda de anticuerpos contra *Brucella canis*, el 13% (10/72) de los canes presentó seropositividad frente a RSAT. En ninguno de los hemocultivos se pudo aislar *Brucella*. A partir de una encuesta autoadministrada completada por los estudiantes al momento de la extracción de sangre de sus perros, no se encontró relación estadísticamente significativa ($p > 0.05$) entre la sero-reactividad y el lugar donde dormían las mascotas (dentro o fuera de la vivienda). Tampoco se pudo encontrar asociación entre los resultados serológicos con el nivel de conocimiento sobre medidas de prevención de la enfermedad ni con la actitud de los propietarios frente al riesgo. Dado que el 68% de los animales salía libremente a la calle y que el 48% dormía dentro de las viviendas, es posible que la fuente de infección se encuentre asociada al contacto ocasional con perros sin sanidad.

Discusión: La Brucelosis canina ha sido ampliamente informada en el mundo y en Argentina, con rangos que llegan hasta el 30.5%^{3,4}. El 61% de la muestra estuvo compuesta por hembras en las cuales se encontró que el 20% tenía serología positiva. La transmisión de la enfermedad en las hembras es a través de las secreciones vaginales, fetos y placenta donde la concentración de gérmenes puede ser del 10¹⁰ bacterias/ml. También es alta la concentración en leche y algunos autores la consideran una vía importante de dispersión en el medio ambiente^{2,3}. La serología en esta población de canes con propietarios detectó un elevado número de individuos seropositivos, siendo un riesgo potencial para la transmisión de Brucelosis en los estudiantes de Medicina Veterinaria por el estrecho contacto que tienen con sus mascotas. Se sugiere profundizar en la concientización y empleo de medidas bioseguridad frente al contacto con animales durante la formación académica de los estudiantes de Medicina Veterinaria, así como el desarrollo desde los cursos de ingreso a la Universidad de programas de educación sanitaria con énfasis en la tenencia responsable para limitar el potencial zoonótico de esta enfermedad.

Bibliografía

1. Angus RD, Barton CE. The production and evaluation of a buffered plate antigen for use in a presumptive test for Brucellosis International Symposium on Brucellosis, Algiers, Argelia, 1983. Dev Biol Stand 1984; 56: 349-56.
2. Carmichael LE. *Brucella canis*. In: Nielsen K, Duncan JR (eds.) Animal Brucellosis. FI: CRC Press, 1990, p 335-50.
3. Boeri, E.; Escobar, G; Lucero, N. Brucelosis canina en perros de la Ciudad de Buenos Aires. Medicina; 68:291-297. 2008
4. Bosque A; Martín, V, Motta C; Richardet, M; Fiorimanti, M.; Espinoza, L. Relevamiento serológico de Brucelosis y estatus sanitario de riesgo en caninos del corralón municipal de Río Cuarto. II Jornada Internacional de la AAIV. Tandil 2015.

E10- PARATUBERCULOSIS BOVINA: DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO CON UN ELISA UREA PARA INTENTAR CATEGORIZAR EL ESTADIO DE LA ENFERMEDAD

LA. Di Paolo¹, MF. Alvarado Pinedo¹, LM. Peralta¹, MA. Romero^{1,2}, GE. Travería¹

¹ CEDIVE. Centro de Diagnóstico e Investigaciones Veterinarias. FCV. UNLP. Alvear y Salta (7139). Chascomús. Buenos Aires.

² Comisión de Investigaciones Científicas de la provincia de Buenos Aires (CIC). Email: ladipaolofcv@gmail.com

Introducción. La paratuberculosis (PTB) es una enfermedad crónica de los rumiantes caracterizada por causar una ileocolitis granulomatosa difusa con compromiso de los linfonodos y vasos linfáticos asociados. La infección se produce en los terneros con el *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP). La enfermedad presenta un periodo de incubación prolongado que cursa con estadios subclínicos que pueden durar varios años. En los bovinos los signos clínicos son baja producción láctea, mala condición corporal y diarrea, al principio intermitente y posteriormente continua. Finalmente, los animales mueren emaciados en un lapso de meses.

El diagnóstico se puede realizar a partir del cultivo bacteriológico de muestras de materia fecal, intestino, linfonodos, leche y otros órganos con lesiones macroscópicas. El desarrollo de colonias puede observarse en un tiempo no menor a 6 semanas y hasta 6 meses. Las pruebas serológicas como la inmunodifusión en gel de agar (AGID) y la prueba de ELISA son alternativas para establecer un diagnóstico indirecto con mayor velocidad. Sin embargo, de acuerdo al estadio en el que se encuentre el animal infectado, los resultados pueden ser variados en cada prueba.

La urea afecta los enlaces de hidrógeno desestabilizando las fuerzas hidrófobas que actúan en la unión antígeno-anticuerpo, las uniones débiles se desprenden, quedando unidas las que tienen mayor afinidad funcional (avidez). El ELISA urea se utiliza para determinar la avidez de los anticuerpos con respecto al antígeno; incrementándose con el tiempo después del contacto inicial con el patógeno y relacionándose con la cronicidad de la infección. El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto del uso de un ELISA urea para determinar el posible estadio que cursa un bovino enfermo de PTB.

Materiales y métodos. Se trabajó con 8 muestras de suero y una muestra de materia fecal de animales diagnosticados de PTB que llegaron al servicio del CEDIVE. Con estas muestras se efectuaron las pruebas de AGID según Sherman y col. (1990) y de ELISA indirecto desarrollado en el CEDIVE (Travería, 2003). En ambas pruebas se utilizó Antígeno de *M. avium* subsp. *avium* lisado a 40 kpsi en un disruptor celular.

Posteriormente se realizó la prueba de ELISA urea a todos los sueros, los cuales se agruparon en positivos y negativos a la AGID. Todas las muestras se incubaron con urea en una concentración 8M durante 5, 10, 15, 20 y 25 minutos antes de agregar el conjugado y continuar con el protocolo de la prueba. Al realizar la lectura de las densidades ópticas (DO) se calculó el índice urea de cada muestra con la siguiente fórmula:

$$\text{Índice urea} = (\text{DO suero con urea} / \text{DO suero sin urea}) \times 100$$

La muestra de materia fecal se cultivó en medio de cultivo de Herrold con micobactina, siguiendo el protocolo de trabajo sugerido por Whitlock y col. (1991). Los resultados se analizaron con estadística Bayesiana.

Resultados. La totalidad de los sueros resultaron positivos a la prueba de ELISA indirecto; cuatro sueros fueron negativos a la AGID y los restantes resultaron positivos a esta prueba, siendo uno de ellos además positivo al cultivo de MAP.

El ELISA urea presentó los mayores valores de índice urea en las muestras AGID negativas a los 5 minutos de incubación. Al analizar la diferencia de medias entre los grupos con resultados de AGID negativos y positivos se obtuvieron diferencias significativas con un ICB 95%. Los resultados se pueden observar en la Tabla 1.

	Media	Mediana	Moda	Límite inferior	Límite superior
μ_1	49.72	49.72	49.55	45.007	54.471
μ_2	64.36	64.38	64.37	56.070	72.600
$(\mu_1 - \mu_2)$	-14.64	-14.65	-14.70	-24.219	-5.259

Tabla 1. Diferencia de medias bayesianas. μ_1 : parámetros del índice urea muestras AGID negativas. μ_2 : parámetros del índice urea muestras AGID positivas. $\mu_1 - \mu_2$: diferencia de medias.

La diferencia entre los índice urea de los grupos AGID negativos y positivos dieron un valor de -14.64, quedando incluido entre los límites -24.219 y - 5.259. La exclusión del valor 0 confirma las diferencias significativas (ver Figura 1)

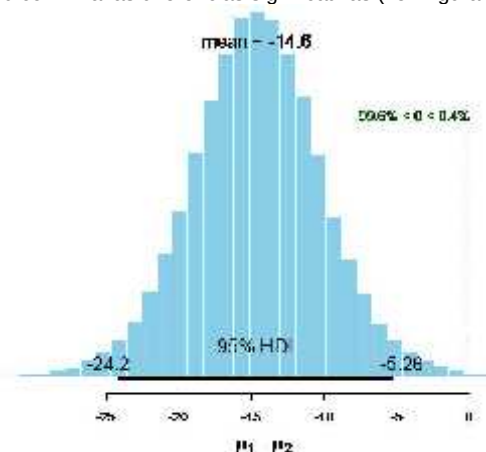


Figura 1. Esquema de diferencias de media bayesiana. Al comparar las medias bayesianas de los índices urea de las muestras que resultaron negativas y positivas a la AGID se observa el valor 0 no queda incluido entre los límites superior (-5.26) e inferior (-24.2).

Discusión. La presencia de cuatro estadios en la PTB desde que los animales jóvenes se infectan hasta que finalmente manifiestan signos clínicos y mueren, plantea un desafío en el diagnóstico de laboratorio, debido a que el periodo de incubación puede durar de 2 a 8 años, dependiendo de la edad inicial de exposición, de la dosis infectiva y del estado general del animal (Körmendy, 1988). Las pruebas serológicas siempre se utilizaron como una opción más veloz de diagnóstico, siendo la AGID la prueba de mayor especificidad en los animales con signos clínicos y la prueba de ELISA tiene mayor sensibilidad en los subclínicos (OIE, 2014). El uso de la prueba de ELISA con el agregado de urea ha sido utilizado en otras enfermedades para determinar el grado de avidez de las Ig G con el antígeno utilizado (Iddawela 2015, Lau 2015, Nagao-Dias 2007). De acuerdo a nuestros resultados, la prueba de ELISA urea demostró correlación entre los valores de mayor índice urea de las muestras ELISA indirecto positivo con resultado de AGID positivo, indicando que estos animales probablemente se encontraban en un estadio clínico.

En la PTB esta prueba sería de gran utilidad a la hora de diferenciar aquellos animales que presentan una unión antígeno-anticuerpo más estable, indicando mayor cronicidad de la enfermedad, de aquellos que cursan un estadio subclínico.

Bibliografía:

1. Iddawela D, Ehambaram K, Kumarasiri PV, Wijesundera S. Development and validation of an Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) test for the diagnosis of toxoplasmosis in Sri Lanka. Ceylon Med J. 2015 Sep;60(3):82-6.
2. Lau L, Green AM, Balmaseda A, Harris E Antibody avidity following secondary dengue virus type 2 infection across a range of disease severity. J Clin Virol. 2015 Aug;69:63-7.
3. Nagao-Dias AT, Almeida TL, Oliveira Mde F, Santos RC, Lima AL, Brasil M.. Salivary anti-PGL IgM and IgA titers and serum antibody IgG titers and avidities in leprosy patients and their correlation with time of infection and antigen exposure Braz J Infect Dis. 2007 Apr;11(2):215-9.
4. Travería GE. Análisis antigénico del *Mycobacterium paratuberculosis* y diagnóstico de la paratuberculosis bovina mediante enzimo inmuno ensayo (ELISA). Tesis doctoral Universidad Nacional de La Plata; 2003.

E11- PRESENCIA DE ANTICUERPOS PARA *TOXOPLASMA GONDII* Y *NEOSPORA CANINUM* Y SU RELACIÓN CON ABORTOS EN CABRAS DE LA PROVINCIA DE LA RIOJA, ARGENTINA

ML Gos ^{1,2}, KD Steffen ¹, L Pardini ^{1,2}, MA Fiorentino ³, TA Vera ⁴, GE Brunello ⁴, LM Campero ^{1,2}, JM Unzaga ¹, GA Moré ^{1,2}, MC Venturini.¹

1. Laboratorio de Inmunoparasitología, FCV-UNLP, La Plata, Bs. As. Argentina. 2. Comisión Nacional de investigaciones científicas y técnicas, Buenos Aires, Argentina. 3. Laboratorio de Bacteriología, INTA EEE Balcarce. 4. INTA EEE La Rioja.

mlgos@fcv.unlp.edu.ar

Introducción: La toxoplasmosis es una importante zoonosis que afecta a las cabras produciendo muertes embrionarias, abortos o nacimiento de crías débiles cuando éstos se infectan durante la gestación, pudiendo sufrir abortos a repetición en aquellas con infección latente. Por otro lado, la neosporosis es una enfermedad causante de abortos en bovinos, que en los últimos años ha sido asociada a la ocurrencia de abortos en caprinos. En Argentina se han realizados estudios serológicos en cabras para ambas enfermedades y bajo distintos sistemas de producción en las provincias de Buenos Aires (1), Córdoba (2) y San Luis (3), como así también un estudio de neosporosis en cabras del departamento de Famatina de la provincia de La Rioja (4). El objetivo de este trabajo fue detectar anticuerpos para *T. gondii* y *N. caninum* en cabras del departamento de Chamental de la provincia de La Rioja y determinar su relación con la presencia de abortos.

Materiales y métodos: Se recolectaron 237 muestras de sueros caprinos pertenecientes a 16 productores de los parajes Los Bordos y Los Molles, Saladillo y Tala Verde, Esquina del Norte, San Antonio y Las Breas del Departamento de Chamental situado en la región de Los Llanos, provincia de La Rioja. Todas las cabras eran seronegativas a brucelosis y pertenecían a pequeños productores que detectaron abortos en sus animales durante el año 2014. Del total de muestras 136 correspondieron a animales con antecedentes de aborto. Los sueros obtenidos fueron diluidos 1:100 y 1:800, y se analizaron por la técnica de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) en el Laboratorio de Inmunoparasitología, FCV, UNLP, utilizando como antígenos portaobjetos con la cepa RH de *T. gondii* y Nc-1 de *N. caninum* y conjugado anti-Ig G de cabra comercial. Además en 154 cabras de 9 productores se realizaron dos muestreos pareados que se procesaron por IFI a título final. Se analizó la asociación entre la presencia de anticuerpos y la presencia de abortos con la prueba chi cuadrado (χ^2) (WinEpi).

Resultados: Se detectaron anticuerpos ($\geq 1:100$) anti-*T. gondii* y anti- *N. caninum* en el 22,4% (53/237) y en el 1,3% (3/237) de los animales muestreados, respectivamente. De las cabras seropositivas a *T. gondii*, el 69,8% (37/53) tenía antecedentes de abortos, con títulos de anticuerpos de 1:100 (81%) y 1:800 (19%) encontrando una asociación significativa entre la presencia de anticuerpos y la presencia de abortos ($p \leq 0.05$) (Tabla 1). Para *N. caninum*, 2/3 de las cabras seropositivas con títulos $\geq 1:800$ tuvieron antecedentes de abortos (datos insuficientes para significancia estadística). El 68,7% (11/16) de los hatos analizados presentaron animales seropositivos para *T. gondii* y el 12,5% (2/16) para *N. caninum*. No se observó seroconversión para ambas enfermedades entre los muestreos de los establecimientos comparados.

Tabla 1. Distribución de cabras con y sin abortos acorde a la presencia de anticuerpos anti- *T. gondii*.

	Seropositivas	Seronegativas	Total
Abortadas	37	99	136
No abortadas	16	85	101
Total	53	184	237

Discusión:

En el presente trabajo se logró determinar la presencia de cabras seropositivas a *T. gondii* y *N. caninum* en cabras con antecedentes de abortos de la Región de Los Llanos, La Rioja. La presencia de anticuerpos anti- *T. gondii* y anti- *N. caninum* determinada en este estudio fue menor a la hallada en trabajos previos de nuestro grupo realizados en las provincias de Córdoba (33% y 4,2%) y Buenos Aires (63% y 9,7%) y similar a la observada en San Luis (19,8% y 2,1%). Las diferencias observadas podrían asociarse con las características de los tipos de explotación de cada región que podrían condicionar la factibilidad de infección. La presencia de anticuerpos anti- *N. caninum* fue menor en este estudio con respecto a los datos obtenidos por Moore y col. en La Rioja en el año 2007 el cual se realizó con animales procedentes de otro departamento ubicado al norte de la provincia. Una alta proporción de productores (68,7%) presentaron animales seropositivos a toxoplasmosis en esta región. Además se encontró asociación entre animales seropositivos a *T. gondii* y los que presentaron abortos. Para neosporosis, sólo 2 productores presentaron animales seropositivos y no se determinó la asociación entre esta enfermedad y la presencia de abortos por el bajo número de animales seropositivos. Sin embargo 2 de 3 cabras con antecedentes de aborto presentaron títulos mayores a 1:800. Futuros trabajos deberían realizarse para determinar si existe asociación entre los tipos de explotación y los animales seropositivos a ambas enfermedades en cada provincia.

Bibliografía:

1. Gos ML, Manazza JA, Moré G y col. Seroprevalence of toxoplasmosis and neosporosis in dairy goats from Buenos Aires, Argentina. Apicomplexa in Farm Animals, 2012.
2. Manazza JA, Späth EAJ, Gos ML y col. Brucelosis, neosporosis, toxoplasmosis y paratuberculosis en caprinos para carne y leche en el noroeste de Córdoba. XIX Reunión Científica Técnica AAVLD, 2012.
3. Gos ML, Delgado MG, Bonzo EB y col. Presencia de anticuerpos para *Toxoplasma gondii* y *Neospora caninum* en caprinos del departamento de Belgrano, provincia de San Luis, Argentina. XX Reunión Científica Técnica AAVLD, 2014.
4. Moore DP, de Yaniz MG, Odeón AC y col. Serological evidence of Neospora caninum infections in goats from La Rioja Province, Argentina. 2007. Small Ruminant Research 73, 256-258.

E12- BÚSQUEDA DE ANTICUERPOS CONTRA DISTINTAS ENFERMEDADES EN OVINOS DE LA PROVINCIA DE LA PAMPA

M. S. Kin¹, G. Giono¹, H. Giménez², M.B. Gómez³, M. Castillo³, B. Brihuega⁴, M. Fort²

¹Cátedra de Biología de Cordados, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UNLPam. ²Laboratorio de Salud Animal, INTA, Anguil. La Pampa. Argentina ³ Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLPam. ⁴Instituto de Patobiología, CICVyA - CNIA, INTA, Morón, Buenos Aires, Argentina. kinsusana@yahoo.com.ar

Introducción

La leptospirosis (*Leptospira*), toxoplasmosis (*Toxoplasma gondii*) y chagas (*Trypanosoma cruzi*) son enfermedades que afectan tanto a animales silvestres como domésticos y al hombre, a diferencia de la Enfermedad de la Frontera (virus de la BDV) y brucelosis (*Brucella ovis*) que afectan solamente a los ovinos.

Con respecto a leptospirosis, los ovinos son reservorios importantes de estas bacterias las cuales pueden producir aborto. Los serovares más importantes de *Leptospira* asociados con aborto son Pomona y Hardjo (Sandow y Ramírez 2005).

La toxoplasmosis transcurre generalmente en forma asintomática, pero cuando la infección ocurre durante la gestación puede producir muerte embrionaria, aborto o nacimientos de corderos débiles o clínicamente normales pero infectados (Basso y Venturini 2009).

La enfermedad de chagas afecta principalmente a los seres humanos aunque muchas especies de animales domésticos y silvestres pueden estar infectadas por el parásito. En la gran mayoría la infección transcurre en forma clínicamente inaparente, siendo esto de importancia ya que los mismos pueden actuar como reservorios.

Brucella ovis es una causa importante de epididimitis, orquitis, que conducen a trastornos de la fertilidad en los carneros. En las ovejas se asocia ocasionalmente con el aborto, pudiendo causar aumento de la mortalidad perinatal en corderos.

La Enfermedad de la Frontera es una enfermedad vírica de las ovejas que produce esterilidad con aparición de abortos y natimortos o el nacimiento de corderos débiles de menor tamaño (OIE 2004).

Todas estas enfermedades producen pérdidas económicas importantes no solo porque afectan a los ovinos, sino que además algunas de ellas pueden ser transmitidas a los seres humanos. De allí la importancia de evaluar la presencia de anticuerpos contra *Leptospira*, *Toxoplasma gondii*, *Trypanosoma cruzi*, *Brucella ovis* y el virus de la Enfermedad de la Frontera en ovinos de la provincia de La Pampa.

Materiales y Métodos

Durante los años 2014 y 2016, en los departamentos Toay, Loventué, Rancul, Maracó y Trenel (La Pampa), se tomaron muestras de sangre a 134 ovinos, pertenecientes a 11 majadas. Las muestras de sangre fueron centrifugadas a 2500 rpm, durante 15 minutos. Luego se procedió a separar el suero, colocarlo en tubos Ependorf y almacenarlo en un freezer a -20° C, hasta su procesamiento. Para la detección serológica y la clasificación taxonómica de *Leptospira*, se utilizó el Test de Aglutinación Microscópica (MAT) (OIE 2008). Las cepas de leptospirosis vivas provienen del Laboratorio de Leptospirosis, Instituto de Patobiología, CICV y A-CNIA., Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Castelar, Buenos Aires, Argentina (Centro Nacional de referencia de *Leptospira*). Para la detección de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* se realizó la Prueba de aglutinación en Látex (LA) y la Prueba de hemaglutinación indirecta (HAI) con un Kit elaborado por Laboratorios Wiener Laboratorios S.A.I.C. Rosario, Argentina. El diagnóstico para la determinación de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* se realizó por medio de la prueba de Hemaglutinación Indirecta (Chagatest HAI, Wiener Lab.). Para la detección de anticuerpos contra *Brucella ovis* se utilizó un ELISA indirecto (IDEXX) y para el virus de la Enfermedad de la Frontera se utilizó un ELISA de Bloqueo (CIVETEST BVD/BD P80 de laboratorio Hipra).

Resultados

Del total de las muestras se detectaron anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en el 20,1% (27/134), mientras que para

Trypanosoma cruzi se halló un 15,7% (21/134). Contra *Leptospira* se encontraron anticuerpos en el 17,2% (10/58) de las muestras, siendo detectado los serovares Pomona y Ballum (todas las muestras provenían de los departamentos Rancul, Maracó y Trenel). *Brucella ovis* fue detectada en un 1,01% (1/99) de las muestras, mientras que la Enfermedad de la Frontera se detectó en un 5,04% (6/119), también para los mismos departamentos en donde se detectó *Leptospira*. *Toxoplasma gondii* fue detectado para los departamentos de Rancul, Maracó, Trenel y Loventué, no así en el departamento de Toay. Chagas solo fue detectado en ovinos correspondientes a los departamentos de Rancul, Maracó y Trenel.

Con respecto a la prevalencia en majadas, 10 de las 12 fueron positivas a toxoplasmosis, 5 a chagas, 2 a Enfermedad de la Frontera y una a *Brucella ovis*. En el caso de *Leptospira* solo se procesaron sueros de 7 majadas, siendo 4 de las mismas positivas a distintos serovares.

Discusión

Estos son los primeros registros de la presencia de anticuerpos contra *Leptospira* siendo detectado los serovares Pomona y Ballum para ovinos de la provincia de La Pampa.

En lo que respecta a *Toxoplasma gondii* se detectó en el 20,1% de las muestras y *Trypanosoma cruzi* con un 15,7%. Ambas enfermedades registraron las incidencias más grandes en majadas, presentando animales positivos el 91% y el 45% para toxoplasma y chagas respectivamente. La prevalencia a Leptospirosis también fue alta en majadas (57%), si bien se realizó diagnóstico solamente en 7 de las 12. En lo que respecta a la Enfermedad de la Frontera de los 6 animales que resultaron positivos, 5 correspondieron a una misma majada ubicada en el departamento Rancul, la misma registraba un importante número de abortos (Giono com. pers.). Finalmente *Brucella ovis* solo fue detectado en un animal, registrando la tasa de prevalencia más baja de todas las enfermedades analizadas. Mayores estudios sobre la prevalencia y los factores de riesgo son necesarios para conocer el real impacto que estas enfermedades tienen no solo sobre la salud animal, sino también sobre la salud humana.

Bibliografía

Basso WU.; Venturini M. 2009. Capítulo 39. Toxoplasmosis en los animales domésticos y silvestres criados en cautiverio: Aspectos epidemiológicos y diagnóstico. En Temas de zoonosis IV. Cacchione RA.; Durlach R.; Martino P.; Asociación Argentina de Zoonosis (eds.). Pg. 355-361.

OIE. 2004. Manual de la OIE sobre animales terrestres. Terrestrial Manual. Capítulo 2.10.5. Enfermedad de la frontera. www.oie.int

OIE. 2008. Terrestrial Manual. Chapter 2.1.9. Leptospirosis. 251- 264. www.oie.int

Sandow K.; Ramírez W. 2005. Leptospirosis. Redvet. 6(6):1-61. <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n060605.html>

E13- DIAGNOSTICO DE ENFERMEDADES VIRALES EQUINAS COMO REQUISITO PARA LA IMPORTACION Y EXPORTACION DE CABALLOS

C. Olguin Perglione¹, M.A. Vissani¹, O. Zabal^{1,2}, M.S. Tordoya¹, L. Becerra¹, S. Miño¹, M. Barrandeguy^{1,2}.

¹Instituto de Virología, CICVyA, INTA Castelar, Buenos Aires; ²Escuela de Veterinaria, Universidad del Salvador, Pilar, Buenos Aires. olguin.cecilia@inta.gob.ar

Introducción

La industria hípica ha tenido un crecimiento sostenido en muchos países a partir de los años 60, tanto con objetivos comerciales como recreativos. En la Argentina, durante la última década del siglo XX se incentivó el desarrollo de la producción equina, lo que favoreció la cría de caballos de distintas razas, lo que posicionó a nuestro país como el 1° productor de caballos de polo y 3° productor de caballos de carrera del mundo. Después del hombre y las aves migratorias, los equinos son la especie que más viaja internacionalmente, ya sea de forma temporal o definitiva. Este hecho facilita la diseminación transfronteriza de enfermedades infecciosas. La introducción de un agente patógeno en una población “naïve” ocasiona importantes pérdidas económicas y en algunos casos impacta sobre la salud pública. La introducción del virus de Influenza Equina (VIE) en Australia en el año 2007 y la reintroducción del virus de Arteritis Equina (VAE) en la Argentina en el 2010, constituyen claros ejemplos de este fenómeno. Por este motivo, el Código Sanitario para Animales Terrestres de la Organización Internacional de Sanidad Animal (OIE), establece una serie de recomendaciones sanitarias a las que suscriben los países miembros para el comercio internacional de animales terrestres (y subproductos), entre ellos, los équidos. Los animales que se transportan internacionalmente deben contar con un certificado sanitario emitido por el Servicio Veterinario Oficial del país exportador, en el cual constan los resultados de los exámenes clínicos y de laboratorio requeridos por el país importador. En la Argentina, el Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA), mediante las resoluciones 617/05 (Programa de Control y Erradicación de enfermedades equinas) y 571/14 (Control Sanitario de semen equino congelado importado) establece los requisitos para la importación de equinos y semen equino. Nuestro laboratorio, el Laboratorio de Virus Equinos del INTA Castelar, realiza el diagnóstico serológico del VAE, Virus del Oeste del Nilo (VON) y VIE; y la detección del VAE en semen y VIE en hisopados nasofaríngeos, que son algunos de los requisitos para la exportación e importación de equinos y semen.

El objetivo de este trabajo es comunicar los resultados de la certificación del estado sanitario, en relación con estas enfermedades virales, durante la cuarentena previa a la exportación o importación de caballos, obtenidos en los últimos 4 años (2012-2016)

Materiales y Métodos

Se analizaron muestras de suero para la detección de anticuerpos contra el VAE (n=12607), VON (n=5868) y el VIE (n=254), 110 muestras de semen para detección del VAE, y 1090 hisopados nasofaríngeos para la detección del VIE de equinos en cuarentena previa a la exportación o importación. Las muestras de suero fueron analizadas por seroneutralización, ELISA (MAC ELISA) e Inhibición de la Hemoaglutinación para la detección de anticuerpos contra el VAE, VON y VIE, respectivamente. En las muestras de semen

se realizó aislamiento viral en cultivo de células (RK13) y RT-PCR en tiempo real para la detección del VAE, y en los hisopados nasofaríngeos RT-PCR en tiempo real para la detección del VIE. Todos estos ensayos fueron realizados en concordancia con las recomendaciones descriptas en el Manual de las pruebas de diagnóstico y de las vacunas para los animales terrestres de la OIE.

Resultados

El 97% (12291/12607) de las muestras analizadas resultaron negativas para VAE mientras que en el 3% (316/12607) se detectaron anticuerpos. Todos los animales que resultaron seropositivos al VAE registraban historia de vacunación, estuvieron involucrados en el brote de Arteritis Viral Equina en el país en el año 2010 o fueron importados como vacunados. No se detectaron animales seropositivos al VON. Con respecto a la serología contra el VIE se determinó, que el 55% de los animales presentaban niveles de anticuerpos considerados protectivos, un 29% niveles intermedios y un 16% no poseían anticuerpos detectables por lo que, fue necesario revacunar a estos últimos antes de la exportación. El VAE no fue detectado en ninguna de las muestras de semen importado analizadas. No se detectó VIE en ninguna de las muestras de hisopados nasofaríngeos de los animales en cuarentena de pre-exportación analizadas.

Discusión

Los resultados obtenidos, evidencian el estado sanitario de los caballos que se comercializan internacionalmente, desde o hacia nuestro país, y son un importante apoyo para el crecimiento de la industria hípica en la Argentina. Adicionalmente estos datos constituyen información epidemiológica valiosa, ya que nos permite inferir que en este período, no hubo circulación de los virus de Arteritis Equina, de la encefalitis del Oeste del Nilo, ni de Influenza Equina en la Argentina. Se pone de manifiesto la importancia del diagnóstico de laboratorio como colaboración con las autoridades sanitarias, favoreciendo y facilitando la comercialización internacional de caballos.

Bibliografía

OIE, *Manual of Diagnostic Test and Vaccines for Terrestrial Animals*, 7^{ma} Edición, 2016
OIE, *Terrestrial Animal Health Code*, 25^ª Edición, 2016
USDA, *International Movement of Horses*, https://www.aphis.usda.gov/animal_health/vet_accreditation/nv_ap_modules/EHP/EHP/Assets/NVAP_Mod08_International_Movement_of_Horses_July2012
<http://www.senasa.gov.ar/cadena-animal/equinos/producción-primaria#block-views-senasacomunica-bloquetrans>

E14- ESTUDIOS SEROLÓGICOS DE LEPTOSPIRA SPP. EN PORCINOS DE TRASPATIO EN GENERAL MADARIAGA, BUENOS AIRES: RESULTADOS PRELIMINARES

PL. Martín¹; E. Pérez²; D. Blanco³; J. Grant⁴; MA. Quiroga², MC. Molina¹, L. Fontana¹, IM. Lorenzo⁵; MS. Arauz¹

¹Laboratorio Central de Análisis Clínicos ²Laboratorio de Patología Especial Veterinaria, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP. ³Bromatología de General Madariaga, ⁴Veterinario de SENASA Gral. Madariaga. ⁵Secretaría de Agricultura Familiar

plmartin@fcv.unlp.edu.ar

Introducción

La leptospirosis es una zoonosis emergente de distribución mundial causada por bacterias del género *Leptospira*. En los animales de producción, la enfermedad constituye un serio problema para la salud pública debido al riesgo laboral al que se exponen los trabajadores (Levett 2001). Asimismo, el impacto económico negativo que ocasiona en la ganadería la convierte en una importante enfermedad para la producción (Dragui y col. 2011). En los porcinos, la leptospirosis se manifiesta por problemas reproductivos, siendo las categorías más susceptibles los lechones y las hembras preñadas. Los signos clínicos se caracterizan por la ocurrencia de abortos, fetos momificados y nacimiento de lechones débiles que mueren a los pocos días (Saravi y cols. 1989). Con respecto a las serovariedades del género implicadas en la enfermedad, diferentes autores han reportado anticuerpos contra Pomona, Icterohaemorrhagiae, Tarassovi, Bratislava, Castellonis, Canicola, Pyrogenes y Grippotyphosa pudiéndose observar en el tiempo, variaciones en los perfiles serológicos. No obstante, la prevalencia del serovar Pomona continúa siendo la de mayor significación epidemiológica en cerdos. Asimismo, se han aislado cepas de los serovares Tarassovi y Canicola, en ambos casos a partir de riñones procedentes de mataderos, dificultando la definición de su poder patógeno potencial. En nuestro país, la prevalencia de la leptospirosis varía de acuerdo a la región estudiada y al tipo de explotación en la que se encuentren los animales. A nivel nacional y en provincias de Córdoba y Santa Fe, se han descripto valores que oscilan entre un 30 % y 35 % de animales positivo (Gualtieri y col. 2010; Petrakovsky y col. 2013). A pesar de la reconocida importancia de la leptospirosis como zoonosis y como causa de pérdidas económicas, la información sobre su prevalencia en cerdos de traspatio es escasa. El presente estudio tuvo como objetivo determinar la frecuencia serológica de *Leptospira* spp. en cerdos de crianza de traspatio de la ciudad de General Madariaga, provincia de Buenos Aires.

Materiales y métodos

En el estudio se incluyeron 23 establecimientos de cerdos periurbanos. Las muestras se obtuvieron entre julio y diciembre del 2015. Se extrajo sangre de las categorías adultas de cada establecimiento, alcanzando un total de 187 animales muestreados. El examen serológico se realizó mediante el test de aglutinación microscópica, según el protocolo descrito por el Organismo Mundial de Salud Animal. La frecuencia de infección se expresó en porcentaje y con un intervalo de confianza del 99 %. Se utilizaron como antígenos cultivos de 9 serovares de *Leptospira* spp. Castellonis, Canicola, Copenhageni, Pomona, Pyrogenes, Grippotyphosa, Hardjo, Wolffi y Tarassovi. Se partió de una dilución 1/100 enfrentando cada suero con los distintos antígenos para verificar la presencia de anticuerpos. Se consideró reactivo un suero que aglutina el 50 % de *Leptospira* spp en comparación con un control. Aquellos sueros que reaccionaron en la primera prueba fueron diluidos en progresión geométrica en base 2 para la obtención del título final.

Resultados

Los establecimientos incluidos presentaron un promedio de 10 animales adultos, con un mínimo de 1 y un máximo de 30. Con respecto al tipo de crianza, 20 establecimientos utilizaron sistema semiextensivo, 2 intensivos y sólo 1 semi-intensivo. En la mayoría se observó encharques de agua y barro, siendo incluso la fuente de agua de bebida. Además se constató la presencia de otras especies domésticas y silvestres. De las 187 muestras de suero analizadas, se obtuvo una prevalencia del 71,66 % (63,17 - 80,1. IC 99%), encontrando en todos los

establecimientos al menos un animal seropositivo. Asimismo, en las muestras seropositivas los serovares más frecuentes fueron Copenhageni (3,53 %) y Pomona (100 %). Los tres animales reactivos al serovar Copenhageni también lo fueron para el serovar Pomona. Los títulos hallados se encontraron entre 100 y 1600, siendo los valores más altos frente al serovar Pomona.

Discusión y conclusiones

La alta frecuencia de aparición de anticuerpos frente a *Leptospira* spp. en la población estudiada demuestra el amplio contacto con esta bacteria zoonótica en porcinos del periurbano de General Madariaga. La prevalencia hallada fue superior a la reportada a nivel nacional y en las provincias de Santa Fe y Córdoba. Nuestros valores podrían ser mayores, debido a que se estudiaron establecimientos de traspatio en los cuales no se dispone de medidas tendientes a reducir los factores de riesgo, tales como, control de roedores u otras especies domésticas y silvestres, control de encharques de agua, barro, zanjas y/o aguas servidas y almacenamiento correcto del alimento. El tipo de explotación en nuestro estudio (periurbanos y de cría principalmente extensiva), reúne las características para la presentación de *Leptospira* spp. en forma endémica, demostrada por la elevada seroprevalencia. La convivencia con encharques de agua, sumado a un año de abundantes lluvias pueden haber sido también razones de esta alta prevalencia. Nuestros hallazgos concuerdan con lo descripto en nuestro país en relación a que el serovar Pomona continúa siendo el más prevalente en porcinos mientras que el serovar Copenhageni mantiene una baja frecuencia de aparición (Gualtieri y col. 2010). Estos resultados difieren de lo hallado por Petrakovsky y col (2013) quienes reportaron con mayor frecuencia la aparición de anticuerpos frente a cepas del serovar Castellonis. En el presente trabajo no incluimos al serovar Bratislava sin embargo, en reportes previos no logramos adjudicarle importancia como agente causal de problemas reproductivos debido a que los sueros reaccionaron simultáneamente a otros serovares y los títulos observados no fueron mayores a 1/100 (Gualtieri y col. 2010). Asimismo, no se descarta la futura inclusión en próximos estudios. De los resultados se desprende la importancia de realizar estudios serológicos en las producciones de traspatio, fuente de subsistencia para muchas familias de la región, considerando la proximidad del contacto hombre/cerdo y la relevancia de *Leptospira* spp. como agente causal de enfermedad zoonótica.

Bibliografía

- 1- Levett, P. Leptospirosis. Clin. Microbiol. Rev. 2001; 14(2): 296-326.
- 2- Draghi MG, Brihuega B, Benítez D, Sala JM, Biotti GM, Pereyra M, Homse A, Guariniello L. Brote de leptospirosis en terneros en recría en la provincia de Corrientes, Argentina. Rev Argentina Microbiol. 2011; 43: 42-4.
- 3- Saravi M.A, Molinari R., Soria E.H., Barriola J.L. Hallazgos serológicos y bacteriológicos, y comportamiento reproductivo en un brote de leptospirosis porcina causado por un microorganismo perteneciente al serogrupo Pomona Rev. sci. tech. Off. int. Epiz., 1989, 8 (3), 697-708.
- 4- Gualtieri C; Arestegui M; Besso R; Pereyra N; Sarradell J; Gattarello V; Poli G; Peralta L. François S. Estudio serológico de leptospirosis en porcinos del sur de las provincias de Santa Fe y Córdoba, Argentina. Memorias del X Congreso Nacional de Producción Porcina, Mendoza, Argentina, 2010.
- 5- Petrakovsky J., Tinao, J.T Esteves, J. Leptospirosis porcina: prevalencia serológica en establecimientos productores de la República Argentina Rev.MVZ Córdoba 18(1):3282-3287, 2013.

E15- DETECCIÓN DE ANTICUERPOS PARA *TOXOPLASMA GONDII* Y *NEOSPORA CANINUM* EN BOVINOS Y OVINOS DE ESTABLECIMIENTOS RURALES DE TIERRA DEL FUEGO

V. Disalvo ⁽¹⁾, M.C. Venturini ⁽²⁾, E. Bonzo ⁽³⁾

- (1) Laboratorio de Diagnóstico Tierra del Fuego "Dr. Raúl Chifflet". Río Grande, Tierra del Fuego. Argentina.
(2) Facultad de Ciencias Veterinarias UNLP. Laboratorio de Inmunoparasitología. La Plata, Buenos Aires. Argentina.
(3) Facultad de Ciencias Veterinarias UNLP. La Plata, Buenos Aires. Argentina.
[E-mail: laboratorio@asociacionruraltdf.org](mailto:laboratorio@asociacionruraltdf.org)

INTRODUCCIÓN

Toxoplasma gondii y *Neospora caninum* son dos protozoos parásitos similares morfológicamente aunque antígenicamente distintos, afectando a varias especies domésticas y silvestres. El primero, causante de la toxoplasmosis, una infección zoonótica. El otro, agente causal de la neosporosis. Ambos, denotan fallas reproductivas, con impacto económico negativo en animales de producción. En la provincia de Tierra del Fuego es desconocido el grado de exposición de los rodeos y majadas a estos agentes. El objetivo de este estudio fue determinar la presencia de anticuerpos para *T. gondii* y *N. caninum* en bovinos y ovinos de establecimientos pecuarios de la provincia.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se desarrolló entre los años 2013 y 2014. El tamaño de muestra se obtuvo mediante Epilinfo (TM) 3.5.1, y fue de 97 bovinos y 69 ovinos. Se muestrearon aleatoriamente 36 establecimientos de cría bovina y 2 establecimientos dedicados a cría bovina y a tambo ovino. Su elección se realizó a partir del banco de sueros del Laboratorio de Diagnóstico TDF, conservados en freezer a -20°C. La técnica diagnóstica utilizada fue la Inmunofluorescencia indirecta (I.F.I) (Ortega-Mora et al. 2007; Moré et al.; 2008), para los agentes etiológicos *T. gondii* y *N. caninum*. Se consideró positiva la dilución 1:100 o la mayor dilución del suero problema en el caso de hacer el título final (sueros de tambo ovinos). El procesamiento de las muestras se realizó en el laboratorio de Inmunoparasitología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata.

RESULTADOS

En referencia al agente *T. gondii* en bovinos de cría, de los 36 establecimientos analizados, 75% (27/36) resultaron negativos y 25% (9/36) positivos. Del total de 97 sueros bovinos analizados, 15,5% dieron resultado positivo. En el tambo bovino el 16 % (3/19) de las muestras analizadas fueron positivas.

Se analizaron los dos únicos establecimientos de tambo ovino, detectándose anticuerpos para *T. gondii* en el 30% (17/56) de los sueros ovinos del tambo N°1 y del 8 % (1/13) del tambo N°2. Del total de muestras ovinas analizadas, 26% (18/69) dieron resultado positivo. A 16 muestras positivas se les realizó la técnica de I.F.I hasta la dilución 1:1600. Los resultados se muestran en el gráfico N°1.

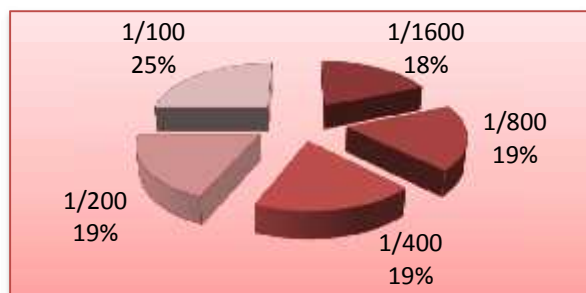


Gráfico N°1. Muestras positivas a *T. gondii* según diluciones.

En el caso de *N. caninum*, todas las muestras procesadas (ovinos de tambo, bovinos de cría y bovinos de tambo) resultaron negativas a la dilución 1:100.

DISCUSIÓN

Los resultados determinaron la presencia de anticuerpos para *T. gondii* en el 26% de 69 sueros ovinos de tambo y en el 15,5 % de 97 sueros bovinos. En un estudio realizado en la región de la pampa húmeda (Hecker y col.; 2013), se detectó 17,3% (122/704) y 3% (21/704) de animales seropositivos para *T. gondii* y *N. caninum*, respectivamente. Este difiere de los hallados en Tierra del Fuego ya que, los resultados de las muestras analizadas para *N. caninum* fueron en su totalidad negativos. Los títulos de anticuerpos podrían sugerir un riesgo potencial, debido a que la toxoplasmosis se relaciona con pérdidas reproductivas, lo que coincide en este caso con el trabajo mencionado en el que, el 42,6 % de los ovinos de tambo seropositivos tenían títulos de anticuerpos mayores a 1:400. No se conoce si las características geográficas y climáticas de la isla, bajas temperaturas y humedad, actuarían como factores predisponentes para la disminución de viabilidad de los ooquistes, y por lo tanto, en las posibilidades de infección de los animales. En condiciones de laboratorio, los ooquistes esporulados podían permanecer viables a -10°C por 106 días (Tenter y col.; 2000). Con el fin de comprender en profundidad la infección por *T. gondii* en ovinos de esta región, es necesario investigar sobre pérdidas reproductivas y fuentes de infección. Es importante estudiar a futuro el rol de la fauna nativa y exótica, ya que puede intervenir en el ciclo biológico de estos protozoos. La incorporación del diagnóstico de *N. caninum* localmente, sería útil en la diferenciación sanitaria de la provincia con respecto al resto del país.

Hecker Y.P., Moore D.P., Manazza J.A., Unzaga J.M., Späth E.J.A., Pardini L.L., Venturini M.C., Roberi J.L., Campero C.M. 2013. First report of seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neosporacanium* in dairy sheep from Humid Pampa, Argentina. *Trop. Anim. Health. Prod.* 45: 1645-1647.

Moré, G., Basso, W., Bacigalupe, D., Venturini, M., Venturini, L. 2008. Diagnosis of *Sarcocystis cruzi*, *Neosporacanium*, and *Toxoplasma gondii* infections in cattle. *Parasitol. Res.* 102: 671-675.

Ortega Mora, L Gottstein B, Conraths F, Buxton D. Potozoal Abortion in Farm Ruminants: Guidelines for Diagnosis and Control. CAB. INTERNACIONAL 2007. ISBN-13: 9781845932114.

Tenter, A., Heckervoth, A., Weiss, L. 2000. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *International Journal for Parasitology.* 30: 1217-125.

E16- RELEVAMIENTO DE AISLAMIENTOS BACTERIANOS EN EL LABORATORIO ESCUELA DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS DURANTE 2009-2016

G Retamar¹, N Sarcione¹, JM Gallardo^{1,2}, K Castillo¹, A Perez¹, V Sirotinsky¹, L Gramajo¹, C Bustos¹, A Etchecopaz¹, P Franco¹, A Muñoz¹, M Mesplet¹, N Guida¹

¹Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Enfermedades Infecciosas. ²Becario CIN nguida@fvet.uba.ar

Introducción

En el Laboratorio de Enfermedades Infecciosas se procesan muestras clínicas para diagnóstico de enfermedades infecciosas veterinarias. Desde el año 2006, estas tareas se llevan a cabo dentro del ámbito del Laboratorio Escuela de Enfermedades Infecciosas (LEEI), en el cual profesionales, alumnos y docentes, comparten, en forma organizada, la experiencia y la casuística en enfermedades infecciosas, brindando método y continuidad al proceso de formación académica y servicio a la comunidad.

El objetivo de este trabajo fue relevar los aislamientos bacterianos realizados en el LEEI durante 2009-2016.

Materiales y Métodos

Se analizó el total de muestras clínicas que fueron recibidas en el Centro de Servicios a Terceros de la Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV) de la Universidad de Buenos Aires (UBA) y remitidas al LEEI para diagnóstico bacteriológico durante el período 2009-2016.

Las muestras fueron procesadas según el protocolo de rutina para aislamiento bacteriológico, para posteriormente ser aisladas e identificadas mediante pruebas bioquímicas según esquema propuesto por Cowan (2006).

Resultados

En el período comprendido entre 2009 y 2016 se recibieron un total de 928 muestras de origen clínico para diagnóstico microbiológico en el laboratorio, de las cuales 561 se procesaron para bacteriología, lo cual representa un 60,5% del total de las muestras recibidas en ese período. En total se obtuvieron 356 cultivos bacteriológicos positivos (63,5%), variando desde un 75% en las muestras provenientes de equinos hasta sólo un 10% para el caso de las muestras provenientes de rumiantes (Tabla 1).

Tabla 1 – Muestras remitidas por especie al LEEI durante 2009-2016. *Entre paréntesis porcentaje de muestras remitidas de esa especie sobre el total de muestras. ** Entre paréntesis porcentaje de cultivos positivos sobre muestras remitidas de esa especie

ESPECIE	MUESTRAS REMITIDAS*	DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO (+)**
CANINOS	343 (61,1%)	239 (69,7%)
FELINOS	83 (14,8%)	41 (49,4%)
AVES	60 (10,7%)	27 (45%)
EQUINOS	40 (7,1%)	30 (75%)
EXÓTICOS	25 (4,5%)	18 (60%)
RUMIANTES	10 (1,8%)	1 (10%)
TOTAL	561	356 (63,5%)

El agente más aislado fue *Staphylococcus* sp. el cual se aisló en 156 muestras (43,8%). Teniendo en cuenta sólo las muestras provenientes de caninos, este agente se identificó en 122 de los aislamientos (51 %), en su mayoría (n:66) en muestras de piel. En segundo lugar, con un total de 78 aislamientos, se ubicaron las enterobacterias (22%), y dentro de este grupo, el agente más aislado fue *E. coli* con un total de 44 aislamientos (12,4%), en su mayoría provenientes de caninos (n:17) y aves (n:17). En esta última especie, fue la bacteria más aislada representando un 45 % de los aislamientos (Tabla 2).

Tabla 2- Aislamientos bacterianos realizados en el LEEI durante el período 2009-2016. N: número de muestras en los que se aisló.

Bacteria	N	%
<i>Staphylococcus</i> sp.	156	43,8
(<i>S. aureus</i>)	39	
<i>Corynebacterium</i> sp.	48	13,5
<i>E. coli</i>	44	12,4
<i>Pseudomonas</i> sp.	27	7,5
(<i>P. aeruginosa</i>)	15	
<i>Proteus</i> sp.	18	5,1
<i>Streptococcus</i> sp.	17	4,7
(<i>S. equi equi</i>)	2	
(<i>S. zooepidemicus</i>)	1	
<i>Micrococcus</i> sp.	12	3,3
<i>Enterobacter</i> sp.	6	1,7
<i>Klebsiella</i> sp.	6	1,7
<i>Rhodococcus</i> sp.	4	1,1
<i>Actinomyces</i> sp.	3	0,8
<i>Bordetella</i> sp.	3	0,8
<i>Trueperella pyogenes</i>	2	0,6
<i>Salmonella</i> spp.	2	0,6
<i>Actinobacillus</i> sp.	1	0,3
<i>Dermatophilus congolensis</i>	1	0,3
<i>Moraxella</i> sp.	1	0,3
<i>Bacillus</i> sp.	1	0,3
<i>Citrobacter</i> sp.	1	0,3
<i>Serratia</i> sp.	1	0,3
<i>Pasteurella</i> sp.	1	0,3
<i>Nocardia</i> sp.	1	0,3
Total	356	100

Discusión

La distribución de los aislamientos por especie animal está relacionada al número de muestras recibidas en el laboratorio para diagnóstico, siendo la mayoría muestras de caninos y felinos, lo cual puede explicarse por la ubicación urbana de nuestro laboratorio y la relación de cercanía con el Hospital Escuela de la FCV, con gran afluencia en pequeños animales. La mayor casuística de *Staphylococcus* sp. coincide con un mayor aislamiento en caninos, especialmente por el requerimiento del veterinario de diagnóstico de piodermias crónicas y recidivantes. Es de destacar que el 43,5 % de las muestras fueron negativas. En estos casos se trató en su mayoría de muestreos de orina, lavados bronquiales, biopsias y controles terapéuticos. Además, en el caso de los bovinos, la mayoría fueron muestras provenientes de necropsias, que fueron analizadas como apoyo al diagnóstico histopatológico.

En este trabajo reportamos y compartimos con la comunidad profesional la casuística de aislamientos bacterianos realizados en el LEEI durante los últimos 6 años.

Referencias

- Cowan and Steel's (2006) Manual for the Identification of Medical Bacteria.

Agradecimientos: a los alumnos del LEEI que procesaron las muestras.

E17- ESTUDIO DE SEROPREVALENCIA A HERPESVIRUS CAPRINO EN CABRAS DE DISTINTAS REGIONES DE ARGENTINA

Echague H³, Ferrecio C³, García S³ Maidana, S.^{1,2,4}, Doderio A⁵, Neumann R⁵; Cortez S⁵; Rodríguez A; Odeon M; María Gabriela Delgado⁶,
Romera, S.^{1,2,3,4}

1 CONICET; 2 CICVyA-INTA Castelar; 3 Universidad del Salvador; 4 Universidad de Morón; 5 EEA-INTA Salta-IIACS ; 6 Laboratorio del
campo – San Luis e-mail: romera.alejandra@inta.gob.ar

Introducción

Herpesvirus caprino 1 es un alfaherpesvirus (Davison, 2009). Se lo aisló por primera vez en California, USA en 1970. Este virus está muy emparentado genéticamente y antigénicamente con BoHV1. El CpHV1 es responsable de infecciones sistémicas letales en cabras de 1 a 2 semanas de edad y de infecciones subclínicas leves en cabras adultas con manifestaciones clínicas que involucran infecciones respiratorias o del tracto reproductivo dependiendo del sitio de entrada del virus, aunque CpHV1 infecta preferentemente la mucosa genital.

La respuesta inmune genera el cese de la excreción viral, pero los animales quedan como portadores latentes. La reactivación genera un nuevo cuadro de excreción viral con diseminación silenciosa del virus en majadas susceptibles. Infecciones genitales por CpHV1 se caracterizan por lesiones eritematosas-edematosa que evolucionan a vesículas y úlceras que se curan en dos semanas (Tempesta, 1999). Se observan con frecuencia en las infecciones primarias o recurrentes balanopostitis, vaginitis, infertilidad o aborto. Los signos clínicos y la presencia de virus en muestras nasales, oculares, rectales y vaginales sugieren la transmisión venérea como principal vía de entrada de virus y la persistencia de la infección en los rebaños (Tempesta, 1999). La época de monta genera en machos, eliminación viral por semen y balanopostitis, por lo que se considera a la transmisión venérea como la vía de ingreso principal del virus.

Después de una infección primaria, los anticuerpos neutralizantes se detectan en el suero 1-2 semanas después de la infección; alcanzan un pico en la tercera o cuarta semana y disminuyen lentamente cerca de 6-10 meses después. Si los animales sufren estrés en esta etapa, CpHV1 puede reactivar y diseminarse, especialmente por vía genital (Tempesta, 2002).

CpHV1 se distribuye en todo el mundo donde existe producción de cabras, las grandes pérdidas económicas se producen en los países mediterráneos. Sin embargo las pérdidas económicas debido a infecciones por CpHV1 están probablemente subestimadas. El objetivo de este trabajo es estudiar la seroprevalencia a CpHV1 en cabras de la provincia de San Luis, Salta, Jujuy y Catamarca.

Materiales y Métodos

Los establecimientos evaluados en este estudio pertenecen a rebaños caprinos de las provincias de Salta, San Luis, Catamarca y Jujuy se evaluaron un total de 1167 sueros.

Para evaluar la presencia de anticuerpos específicos contra CpHV1 se utilizó un ELISA indirecto enfrentando los sueros a CpHV1 y BoHV1 semipurificados.

Los establecimientos de Salta evaluados en este estudio pertenecen a 40 rebaños caprinos para producción de carne del departamento Anta, subregión de Chaco Semiárido de la Ecorregión del Chaco Seco y un rebaño lechero del departamento Cerrillos, subregión Serrana de la Ecorregión del Chaco Seco. De San Luis se tomaron muestras en 29 localidades de 5 departamentos, estos 5 departamentos congregan el 90% de la población caprina de la provincia de San Luis. Se evaluaron 580 sueros muestreados en los distintos departamentos. En su mayoría los establecimientos muestreados corresponden a producción de carne solo 3 de ellos elaboran y venden subproductos lecheros.

De la provincia de Catamarca se evaluaron en total 92 sueros de un solo predio (tambo).

Resultados

Los resultados muestran que en todas las regiones evaluadas se detectaron animales seropositivos a herpes caprino. Se observaron seroprevalencias parciales a CpHV1:

de un total de 495 sueros muestreados en 40 predios de Salta resultaron positivos 216 sueros resultando en un 43.63% de seroprevalencia. De Catamarca de 32 sueros evaluados de un predio tambo, 3 sueros resultaron positivos arrojando una seroprevalencia a CpHV1 de 9.3%. De la provincia de San Luis de 580 sueros evaluados principalmente de predios de producción de carne el 32% resultó positivo a CpHV1.

Discusión

El CpHV1 tiene un fuerte impacto económico en los rebaños caprinos, ya que afecta la fertilidad de las hembras e induce abortos en el último tercio de la gestación (McCoy, 2007; Uzal, 2004; Grewat, 1986). La permanencia de este virus en el rebaño es indeseable ya que se puede mantener en forma subclínica y reactivarse naturalmente durante la época de reproducción debido a los cambios hormonales y situaciones de estrés a los que se somete a los animales de manera cíclica (Tarigan, 1987; Tempesta 1999). La posibilidad de abortos por esta causa se incrementa cuando los animales presentan inmunodepresión. La enfermedad producida por herpesvirus caprino plantea, una doble problemática: económica y sanitaria. Desde el punto de vista económico es un factor adverso para esta explotación, porque incide negativamente en la productividad de los caprinos y en la calidad higiénico-sanitaria de sus derivados. En la actualidad, uno de los tratamientos eficaces para el control de la enfermedad en caprinos consiste en la administración vaginal del antiviral aciclovir (Tempesta, 2002; Zabawski, 1998) sin embargo, el tratamiento resulta costoso y requiere de un manejo excesivo. Algunos tratamientos preventivos, como la vacunas, aún se encuentran en fase experimental, por tanto las medidas de control están enfocadas a optimizar las medidas de manejo a fin de disminuir el estrés sobre todo en la etapa reproductiva. La información aportada sobre seroprevalencia a CpHV1 de distintas regiones incidirá en el desarrollo de estrategias de control sanitario para ser implementadas en las comunidades rurales, sobre todo en aquellos establecimientos con casos de abortos y mortalidad peri natal en las majadas.

Bibliografía

- Davison AJ, Eberle R, Ehlers B, Hayward GS, McGeoch DJ, et al. The order Herpesvirales. Arch Virol. 2009;154:171–177.
- Deryck HR, Van Kampen H et al. Abortion and ulcerative posthitis associated with caprine herpesvirus-1 infection in goats in California. J Vet Diagn Invest 2004; 16:478–484.
- Grewat AS, Wells R. Vulvovaginitis of goats due to caprine herpes virus. Aust Vet J 1986; 63:79–8
- McCoy HM, Montgomery LD, Bratanich CA. Serologic and reproductive findings after a Herpesvirus-1 abortion storm in goats. J Am Vet Med Assoc 2007; 231: 1236–1239.
- Tarigan S, Webb RF, Kirkland D. Caprine herpes virus. Aust Vet J 1987; 64:321.
- Tempesta M, Camero M, Thiry J, Neyts J et al. Cidofovir is effective against caprine herpesvirus 1 infection in goats. Antivir Res 2007; 74: 138–141.
- Tempesta M, Greco G, Pratelli A, et al.: 2002, Reactivation of caprine herpesvirus 1 in experimentally infected goats. Vet Rec 4:116–117.
- Tempesta M, Pratelli A, Corrente M, Buonavoglia C. A preliminary study on the pathogenicity of strain of caprine herpesvirus-1. Comp Immunol Microbiol Infect Dis. 1999;22:137–143.
- Tempesta M, Buonavoglia C. Detection of caprine herpesvirus 1 in sacral ganglia of latently infected goats by PCR. J Clin Microbiol 1999; 37: 1598–1599.
- Uzal FA, Woods L, Stillian M, Nordhausen R,

E18- ESTUDIO LONGITUDINAL DE UN BROTE DE CRIPTOSPORIDIOSIS EN TERNEROS DE UN TAMBO DE ARGENTINA

J Toledo¹, M.L Tomazic^{1,2}, J. Lombardelli^{3,2}, R Galarza⁴, K Tiranti³, CJ Garro¹, M Florin-Christensen^{1,2,5} y L.Schnittger^{1,2,5}

¹Instituto de Patobiología, CICVyA, INTA, 1686 Hurlingham, Argentina; ²CONICET, Buenos Aires, Argentina, ³Departamento de Patología Animal, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto, ⁴EEA-Rafaela, INTA, Rafaela, Prov. de Santa Fe, Argentina, ⁵Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad de Morón. Argentina. E-mail: tomazic.mariela@inta.gob.ar

Introducción. *Cryptosporidium* sp. es un protozoo parásito que infecta a una gran variedad de vertebrados hospedadores. La especie *C. parvum* es el principal agente etiológico de la criptosporidiosis y representa una de las principales causas de diarrea neonatal bovina, además de ser potencialmente zoonótico. La vía de transmisión es fecal-oral, siendo el ooquiste, eliminado por las heces, el elemento infectante. El estudio longitudinal y la caracterización molecular permiten la evaluación de la dinámica de la infección, las causantes especies y subespecies, y su potencial zoonótico. En el presente trabajo se colectaron muestras fecales de terneros de un brote en un tambo durante diferentes etapas en sus primeros meses de vida con el objetivo de determinar la dinámica de infección y las especies y subtipos involucrados mediante técnicas moleculares.

Materiales y métodos. Once terneros fueron muestreados cada dos semanas durante el primer mes y luego mensualmente hasta el décimo mes. Las muestras fueron diagnosticadas por microscopía utilizando la tinción de Ziehl-Neelsen modificada. De las muestras positivas se aislaron ooquistes mediante la técnica de flotación con sacarosa. Se realizó la ruptura de ooquistes mediante un procedimiento de lisis alcalina sumado a diez ciclos de congelado-descongelado. La extracción de ADN se realizó mediante el kit QIAamp DNA Stool (Qiagen). Para la determinación de la especie se utilizó la técnica de PCR-RFLP. Para ello se amplificó por PCR una región polimórfica del gen SSU rDNA con los primers P2Fy P2R¹. En los casos donde no se obtuvo amplificación por PCR convencional se realizó una PCR anidada (nPCR). En la primera amplificación, se utilizaron los primers P1Fy P1R¹ y en la segunda, se usaron P2F y P2R¹. Los amplicones finales fueron de aproximadamente 840 pb y fueron digeridos con las enzimas MbolI y SspI para detectar los polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción (RFLP). El patrón de bandas fue visualizado por UV en un gel de agarosa al 2% teñido con bromuro de etidio. Para la subgenotipificación de *C. parvum* se amplificó la región polimórfica del gen GP60 utilizando los primers AL31F y AL35R². Los amplicones generados (aproximadamente 880 pb) fueron sometidos a secuenciación directa. Las secuencias nucleotídicas fueron editadas con el programa Vector NTI 8.0 para determinar el subtipo en base a la cantidad y tipo de repeticiones (TCA,TCG y ACATCA) de la región hipervariable. Adicionalmente, las secuencias nucleotídicas fueron alineadas con secuencias de referencia depositadas en la base de datos GenBank.

Resultados. El número de animales infectados comparado con los animales estudiados en cada período fue 10 de 11 (91%), 3 de 4 (75%), 8 de 11 (73%), 3 de 10 (30%), 0 de 7 (0%), 1 de 3 (33%), 2 de 7 (29%), 1 de 4 (25%), 1 de 6 (17%), 1 de 11 (9%) para la primera quincena, segunda quincena, segundo mes, tercer mes, cuarto mes, quinto mes, sexto mes, séptimo mes, noveno mes y décimo mes, respectivamente. Todos los terneros estuvieron infectados en al menos un período de determinación resultando en una tasa de infección acumulada

de 100%. Todos los terneros comenzaron a excretar ooquistes entre el día 7 y el 13, a excepción de uno que comenzó el día 34. El pico máximo de excreción ocurrió entre el día 10 y el 16 correspondiendo con la edad de terneros determinado en un trabajo previo de nuestro grupo³. Se pudieron amplificar 21 de las 33 muestras diagnosticadas positivamente por microscopía (64%) y ninguna con un diagnóstico negativo. Todas las muestras amplificadas mostraron un patrón de bandas concordante con el de *C. parvum*⁴ y provenían de terneros del primer mes de vida³ a excepción de una muestra perteneciente al segundo mes. Las nueve muestras diagnosticadas como positivas a *C. parvum*, pertenecientes a terneros diferentes, mostraron el subgenotipo IlaA20G1R1, indicando que se trata de un solo brote.

Discusión. El elevado porcentaje de infección encontrado concuerda con la mayoría de los reportes en otras partes del mundo⁵, los cuales además establecen que la especie *C. parvum* es predominante en el primer mes de vida. Como en estudios anteriores de nuestro grupo de trabajo no se encontraron otras especies⁵. Si bien es posible que *C. parvum* sea la única especie infectante, los métodos de subgenotipificación basados en PCR tienden a ser insensibles a variantes minoritarias presentes en infecciones mixtas⁴. No obstante, es necesario continuar y profundizar los estudios, ya sea aumentando el número de terneros en estudio o bien mejorando la sensibilidad en la detección. Por otro lado, el subtipo encontrado, IlaA20G1R1, ha sido previamente reportado en humanos⁶, por lo cual se recomienda adoptar medidas preventivas al tomar contacto con terneros menores de un mes de vida, dada, además, la alta infección hallada.

Bibliografía

1. Xiao L et al. (1999). Phylogenetic analysis of *Cryptosporidium* parasites based on the small-subunit rRNA gene locus. *Appl Environ Microbiol.* 65: 1578-83.
2. Alves M et al. (2003). Subgenotype analysis of *Cryptosporidium* isolates from humans, cattle, and zoo ruminants in Portugal. *J Clin Microbiol.* 41: 2744-7.
3. Garro CJ et al (2016). Prevalence and risk factors for shedding of *Cryptosporidium* spp. oocysts in dairy calves of Buenos Aires province, Argentina. *Parasite Epidemiology and Control* 1: 36–41.
4. Tomazic ML, et al. (2013). Molecular characterization of *Cryptosporidium* isolates from calves of Argentina. *Vet Parasitol.* 198: 382–86.
5. Rieux A et al. (2013). Molecular characterization of *Cryptosporidium* isolates from pre-weaned calves in western France in relation to age. *Vet Parasitol.* 197: 7-12.
4. Grinberg A, Widmer G. (2016). *Cryptosporidium* within-host genetic diversity: systematic bibliographical search and narrative overview. *Int J Parasitol.* 46: 465-7.
5. Zintl A et al (2011). Longitudinal and spatial distribution of GP60 subtypes in human cryptosporidiosis cases in Ireland. *Epidemiol Infect.* 139: 1945-55.

Financiamiento: FonCyt: PICT-2013-1708; INTA: PNSA-1115053; Fundación Universidad de Morón PID8-2015.

E19- AISLAMIENTOS DE LEVADURAS REALIZADOS EN EL LABORATORIO DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS DURANTE 1996-2015

A Etchecopaz¹, G Retamar¹, M Mesplet¹, N Guida¹

¹Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Enfermedades Infecciosas. nguida@fvvet.uba.ar

Introducción

Las levaduras suelen ser habitantes normales de la piel y mucosas de los animales y el hombre, sin embargo pueden estar implicadas en diversos procesos patológicos, que incluyen desde una serie de afecciones cutáneas locales hasta infecciones sistémicas.

En las últimas décadas las enfermedades fúngicas pasaron a tener mayor importancia para la salud pública, principalmente debido al mayor número de individuos con microbiota alterada o inmunosuprimidos, que son más propensos a desarrollar infecciones por levaduras oportunistas (Guillot y col 1996).

En el Laboratorio de Enfermedades Infecciosas se procesan muestras clínicas para diagnóstico de enfermedades infecciosas veterinarias. Desde el año 2006, estas tareas se llevan a cabo dentro del ámbito del Laboratorio Escuela de Enfermedades Infecciosas (LEEI), en el cual profesionales, alumnos y docentes, comparten, en forma organizada, la experiencia y la casuística en enfermedades infecciosas, brindando método y continuidad al proceso de formación académica y servicio a la comunidad.

El objetivo de este trabajo fue relevar los aislamientos de levaduras realizados en el Laboratorio de la Cátedra de Enfermedades Infecciosas desde 1996 hasta 2015.

Materiales y Métodos

Las muestras fueron procesadas según el protocolo de rutina para aislamiento micológico, se sembraron en agar Sabouraud glucosado, Lactrimel y medio de Dixon para *Malassezia*. Se incubaron por 3-5 días a 28° C y 37° C. La identificación se llevó a cabo mediante criterios morfológicos (la observación de las características macro y micromorfológicas con azul de lactofenol, coloración con tinta china y en fresco), y criterios bioquímicos (medios cromogénicos, ureasa) (Pernán 2007, Negroni 1997).

Resultados

Durante el período comprendido entre 1996 y 2015, se recibieron 3144 muestras para diagnóstico microbiológico en el laboratorio, de las cuales 861 muestras se procesaron para micología, lo cual representa un 27,4% del total de las muestras recibidas en ese período. Se obtuvieron 256 cultivos micológicos positivos (30%), identificando 169 levaduras (66,8%) y 84 hongos miceliares (33,2%).

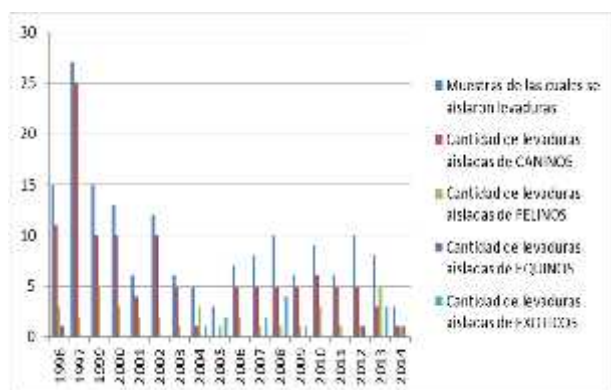


Figura 1- Distribución temporal de los aislamientos positivos a levaduras según su origen en el período 1996-2015

La mayoría de los aislamientos provinieron de muestras de caninos (68,6%), seguidas por felinos (22,5%), reptiles (6,5%),

equinos (1,8%), aves de rapiña (0,6%) y psitácidos (0,6%) (Fig. 1).

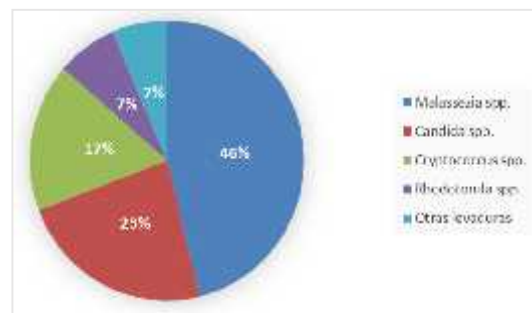


Figura 2- Distribución de los aislamientos de levaduras según el género.

El género más aislado fue *Malassezia* (46,2%), seguido de *Candida* (23%), *Cryptococcus*. (17,2%), *Rhodotorula* (7,1%) y otros (6,5%) (Fig. 2).

Discusión

Con respecto a los resultados obtenidos, es llamativo que del total de muestras enviadas con diagnóstico presuntivo de micosis, sólo el 30% haya tenido un resultado positivo. En ese sentido, creemos que existe un sobre diagnóstico clínico de dermatofitosis, el cual podría deberse a que los veterinarios clínicos quieran descartar esta patología -de fácil diagnóstico certero-, antes de abordar diagnósticos más complejos de patologías endócrinas, alergias, enfermedades inmunosupresoras, entre otras.

La distribución de los aislamientos por especie animal está relacionada al número de muestras recibidas en el laboratorio para diagnóstico, siendo la mayoría muestras de caninos y felinos, lo cual puede explicarse por la ubicación de nuestro laboratorio. La mayor casuística de *Malassezia* sp. (46%) coincide con un mayor aislamiento de levaduras en caninos, especialmente por el requerimiento del veterinario de otocultivo micológico.

Los aislamientos de *Candida* sp. fueron obtenidos a partir de variedad de muestras y especies animales, a diferencia de la mayor proporción de aislamientos de *Cryptococcus* sp., que fueron identificados a partir de muestras de felinos, hisopados y lavajes nasales, y biopsias de granulomas ubicadas en cabeza y miembros.

En este trabajo reportamos y compartimos con la comunidad profesional la casuística de aislamientos de levaduras que fueron realizados en el LEEI durante 19 años.

Referencias

- Guillot J, E Guého, M Lesourd, G Midgley, G Chévrier, B Dupont. (1996) Identification of *Malassezia* species: a practical approach. J Mycol Med 6, 103-110.
- Negroni, Ricardo (1997). Lecciones de micología clínica. Editorial La Agenda.
- Pernán J, E Martín-Mazuelos, MC Rubio Calvo. Guía Práctica de Identificación y Diagnóstico en Micología Clínica-Capítulo 11. 2da edición. Revista Iberoamericana de Micología, Bilbao, 2007.

Agradecimientos: a los alumnos del LEEI, por colaborar en el procesamiento de las muestras.

E20- ESTUDIO SEROEPIDEMIOLÓGICO DE LA BRUCELOSIS CANINA EN EL PARTIDO DE BAHÍA BLANCA

A. Prochazka⁽¹⁾, E. Bonzo⁽²⁾, G. Miceli⁽³⁾ y E. Mortola⁽³⁾

⁽¹⁾Jefa de la Sección Veterinaria de IACA Laboratorios, ⁽²⁾Cátedra de Epidemiología y ⁽³⁾Cátedra de Inmunología Veterinaria de la Facultad de Cs. Veterinarias de UNLP; Calle 60 y 118. 1900 – La Plata. mortola@fcv.unlp.edu.ar

Introducción. La brucelosis canina es una enfermedad infecciosa, contagiosa, de curso sub- agudo o crónico. Produce infertilidad tanto en hembras como en machos y por su naturaleza zoonótica presenta un riesgo sanitario para propietarios, criadores y demás personas que conviven con el animal infectado. Los perros y otros cánidos son los huéspedes habituales de la *Brucella canis*. La transmisión entre caninos puede ser horizontal o vertical por la placenta o a través de la lactancia. La vía sexual es la más común, aunque no se descartan las vías oral, nasal o conjuntival. La brucelosis canina causa aborto en las hembras, generalmente al final de la preñez; si ésta llega a término las crías suelen nacer muertas o tan débiles que sobreviven poco tiempo. En los machos, la infección causa epididimitis unilateral o bilateral, aumento o atrofia testicular, inflamación de próstata y/o de ganglios periféricos y esterilidad. En la Respuesta Inmune adaptativa contra *Brucella spp.* involucra tres mecanismos principales, que actúan en diferentes etapas de la infección: i) la generación de una respuesta humoral con producción de Ac, ii) la activación de la función bactericida de los macrófagos por acción del IFN- γ producido por células T CD4+ y CD8+ y iii) la lisis de células infectadas por LT CD8+. Los anticuerpos se hacen detectables a partir de las dos semanas postinfección. En forma similar a todas las infecciones por *Brucella*, en la primera fase de la respuesta humoral predomina la IgM que va siendo paulatinamente superada por la IgG que predomina en la respuesta crónica. En el diagnóstico serológico el método más empleado y que arroja los mejores resultados es la aglutinación rápida en placa (RSAT), también existen otros la Inmunodifusión en gel de agar. Los estudios seroepidemiológicos permiten estudiar la distribución de las enfermedades de manera indirecta, mediante la detección sérica de marcadores de infección y de inmunidad. El Objetivo general del presente trabajo es determinar la seroprevalencia de Brucelosis canina en el Partido de Bahía Blanca, Provincia de Buenos Aires y clasificar de acuerdo a la raza, sexo y edad, con la finalidad de Conocer la situación epidemiológica de la enfermedad y proporcionar información y herramientas técnicas para su control.

Materiales y métodos. Las muestras de sangre provienen de caninos, que ingresaron al IACA laboratorio de la localidad de Bahía Blanca, durante el período establecido entre octubre de 2013 a diciembre de 2015. Para la detección de anticuerpos se empleó la técnica de micro aglutinación rápida en portaobjetos

con el antígeno RSAT producido por el SENASA. Este antígeno utiliza una suspensión de *Brucella canis* M- inactivada y coloreada con Rosa de Bengala, volumen celular 6% y pH7. La cantidad de muestras se calculó tomando como referencia datos bibliográficos que estiman en Buenos Aires una prevalencia de 10,7%. En nuestro análisis tomamos como referencia esta tasa de prevalencia. Se analizaron 333 muestras de caninos llevados a consulta para chequeos de rutina o pre servicios y sus resultados analizados mediante Winepi, net

Resultados y discusión. La prevalencia de positivos en la muestra analizada es de 14%, no variando según sexos. El motivo más frecuente de consulta fue chequeo pre servicio (92%). De nuestras muestras analizadas la mayor parte de ellas provienen de criaderos, siendo la raza Bull Dog Francés, Caniche y Chihuahua la de mayor frecuencia. RSAT es una prueba rápida, que no requiere preparación técnica ni instrumental sofisticado para su realización, es sensible con rara aparición de falsos negativos y alta especificidad al emplear la cepa de *B. canis* M-. Esta prueba es la utilizada como screening oficial en EE.UU. No existen datos sobre la prevalencia de Brucelosis canina en la zona de Bahía Blanca, este estudio seroepidemiológico presenta una temática original para la zona geográfica elegida y de interés no sólo para la medicina veterinaria sino también para la salud pública por ser esta enfermedad una afección zoonótica.

Bibliografía.

- 1-Carmichael LE, Shin SJ. 1996. Canine brucellosis: A diagnostician's dilemma. Vet Med Surg. 11(1):161-165.
- 2-Carmichael, L. E., Zoha, S. J., Flores-Castro, R. 1984a. Biological properties and dog response to a variant (M-) strain of *Brucella canis*. Developments in Biological Standardization, 56: 649-656.
- 3-Estein, Silvia Marcela.2006. Brucelosis: Inmunidad y vacunación (revisión bibliográfica). Veterinaria REDVET Vol. VII, N° 05,
- 4-López, G; Ayala S.M., Efron A.M. Gómez, C.F., Lucero N.E. 2009. A serological and bacteriological survey of dogs to detect *Brucella* infection in Lomas de Zamora Buenos Aires province. Revista Argentina de Microbiología, 41 , pp. 97–101.
- 5-Wanke, M. M. 2004. Canine brucellosis. Animal Reproduction Science, 82-83: 195-207.

E21- ACTUALIZACIÓN DE LA SITUACIÓN DE LA BRUCELOSIS EN RUMIANTES DOMÉSTICOS DE LA PROVINCIA DE FORMOSA, ARGENTINA

D. Martínez¹, A.M. Russo², C. Storani¹, R. Jacobo¹, F. Cipolini¹; E. Martínez¹, O.A. Mancebo², M.G. Espasandín¹, S. Torioni de Echaide³,
¹ Cátedra de Enfermedades Infecciosas, Facultad de Ciencias Veterinarias- UNNE. Sgto. Cabral 2189, 3400 Corrientes- ²CIT, Ruta Nac. 11 km 1164, 3600 Formosa- ³INTA, EEA, Rafaela. Ruta 34 km 227, 2300 Rafaela, Sta Fe.

e-mail: demartinez@vet.unne.edu.ar

Introducción

La brucelosis es una enfermedad infecciosa que afecta a varias especies domésticas y es producida por bacterias del género *Brucella*. Genera importantes pérdidas económicas que impactan en la producción pecuaria y es relevante para la salud pública. En el país está vigente desde 1998 el Plan Nacional de Control y Erradicación de la Brucelosis Bovina, que incluye a bovinos y –desde 2005- a bubalinos. El plan se basa en la vacunación con Cepa 19 de *B. abortus*, el diagnóstico serológico y envío a frigorífico de los positivos. Por su parte, los ovinos y caprinos son diagnosticados pero su vacunación no está permitida en la provincia de Formosa y está reservada para los caprinos específicamente de las provincias de San Juan y Mendoza. La cantidad de rodeos de bovinos, búfalos, caprinos y ovinos es significativa en la mencionada provincia y constituye una importante fuente de recursos para diversos sectores de la economía, desde latifundios a explotaciones parvifundistas. El objetivo de este trabajo fue realizar una actualización sobre la situación de la brucelosis en rodeos bovinos, bubalinos, caprinos y ovinos de la provincia de Formosa, en el marco de un proyecto de investigación acerca de aspectos epidemiológicos de la enfermedad, realizado en conjunto entre FCV-UNNE y CIT Formosa.

Materiales y métodos

Se recabó información de rodeos bovinos, bubalinos, caprinos y ovinos de la provincia de Formosa (Tabla 1) que fueron analizados para el diagnóstico de brucelosis en el laboratorio del CIT Formosa, L298, donde utilizaron las técnicas de BPA (Aglutinación con antígeno tamponado), FPA (FLuorescencia polarizada) y FC (Fijación del Complemento), durante los años 2014, 2015 y primer semestre de 2016.

Tabla 1. Cantidad de rodeos y de muestras analizados, por especie, en la provincia de Formosa.

	Rodeos (n)	Sueros (n)
Bovinos	298	20.541
Bubalinos	5	232
Caprinos	203	14.590
Ovinos	36	1.297
TOTAL	542	36.660

Resultados

La proporción global de rodeos positivos a brucelosis fue de 13,8%, 60%, 6,4% y 0% para bovinos, búfalos, caprinos y ovinos respectivamente. La evolución de los seropositivos (sueros positivos/total de sueros) a brucelosis por especie y año se muestra en la Figura 1.

Es de destacar que, salvo en ovinos donde a lo largo de todo el período evaluado no hubo animales serorreacores, en las otras especies la cantidad de positivos se mantuvo por debajo del 2%, exceptuando un valor más elevado en 2016 para la especie bubalina.

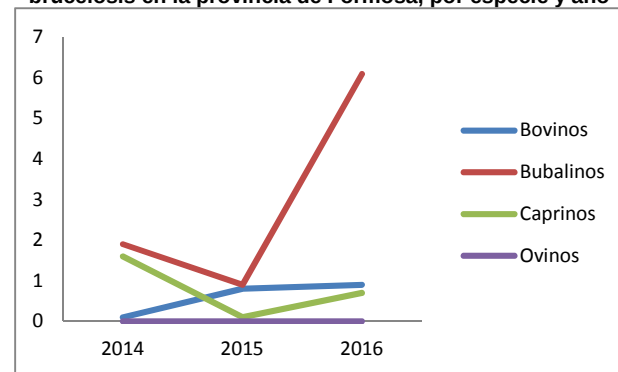
Discusión y Conclusiones

La situación epidemiológica de la brucelosis en Formosa fue claramente diferente en función de la especie analizada. La especie que mayores índices registra es la bubalina, con valores, similares aunque más elevados que los de los bovinos. Esto podría atribuirse a la posterior incorporación de esta especie al Plan Nacional de Control y Erradicación. Cabe destacar que la persistencia de anticuerpos post-vacunales podría llevar a la sobrestimación de la brucelosis, dado que el diagnóstico se basa en pruebas serológicas que limitan la discriminación de los anticuerpos post-vacunales de los generados por la infección natural. Es sabido que

debido a las dificultades que se presentan en el manejo de la especie bubalina, puedan registrarse casos donde la vacunación sea realizada fuera de la edad reglamentaria ocasionando de este modo una positividad en la edad adulta. Esas mismas dificultades en el manejo de la especie serían también causantes de ineficiencias en la identificación y descarte de los animales infectados, permaneciendo éstos en los rodeos. Martínez y col. en 2014, han reportado elevados índices de positivos a brucelosis en la citada provincia. En los caprinos se observó una disminución en la cantidad de animales positivos, sin embargo, los datos serológicos de los últimos 3 años provienen de rebaños ubicados en la región Central, Sur y Este de la provincia, lugar donde las prevalencias son menores, tal como han reportado Russo y col. 2016, donde además se deja precedente de que es el Oeste formoseño la región con mayor presencia de brucelosis en cabras. En el caso de los ovinos, éstos podrían resultar infectados por *B. melitensis*, especie característica de los caprinos, con los cuales frecuentemente conviven. Sin embargo, no se han hallado serorreacores en la especie ovina durante el período considerado en este estudio.

Se concluye que la brucelosis es una enfermedad de importante presencia en rodeos domésticos de la provincia de Formosa y que para poder disminuir los índices hallados, que demuestran ser constantes a través de los años, debe aplicarse correcta y extensamente los planes de control y erradicación existentes que impactarán en la disminución de la incidencia de la enfermedad.

Figura 1. Evolución del porcentaje de animales positivos a brucelosis en la provincia de Formosa, por especie y año



Bibliografía

Martínez, DE; Russo, AM; Storani, CA; Thompson, C; Jacobo, RA; Cipolini, MF; Martínez, EI, Torioni de Echaide, S. **Caracterización serológica de brucelosis en búfalos y bovinos del NEA argentino.** Trabajo presentado en la XX Reunión Científico-Técnica de la AAVLD, Tucumán, 2014.

Russo AM; Mancebo, OA; Monzón CM; Gait JJ Casco RD; Torioni De Echaide S. **Epidemiología de la brucelosis caprina y ovina en la provincia de Formosa, Argentina.** Revista Argentina de Microbiología 48 (2): 147-153.

SENASA. **Plan Nacional de Control y Erradicación de la Brucelosis y Tuberculosis bovina.** Resoluciones N° 150/2002 y 725/05.

E22- ESTUDIO DE PREVALENCIA DE LEPTOSPIROSIS EN CAPRINOS DEL DEPARTAMENTO BELGRANO, PROVINCIA DE SAN LUIS, ARGENTINA

B. Brihuega¹, G. Delgado.², E. Martín Rodríguez.², M. J. Spina², S. Grune,¹, M. Martínez¹, G. Romero,¹ L. Samartino¹, C Garro¹.

¹Instituto de Patobiología. Centro de Investigaciones en Ciencias Veterinarias y Agronómicas. INTA Castelar.-²Ministerio de Medio Ambiente, Campo y Producción. Provincia de San Luis

brihuega.bibiana@inta.gob.ar

Introducción: La leptospirosis es una enfermedad infecciosa que afecta a los animales de producción, animales de compañía, silvestres y en forma accidental al hombre. Esta zoonosis es causada por distintos serovars de *Leptospira* spp. En los pequeños rumiantes produce abortos, natimortos, crías débiles, retención placentaria y mastitis ocasionando importantes pérdidas económicas. El diagnóstico serológico es una herramienta diagnóstica de utilidad para esta enfermedad. Los títulos de anticuerpos (Ac) aparecen entre los 6 y 12 días después de la infección y luego declinan moderadamente, aunque pueden persistir por semanas o años. Una de las pruebas serológicas utilizadas para determinar el nivel de Ac es la prueba de aglutinación microscópica (MAT), que es la técnica de referencia internacional. El resultado de la prueba MAT debe ser interpretado teniendo en cuenta datos epidemiológicos como vacunación, infecciones crónicas, ingreso de animales, características de los terrenos, etc. Cuando se observa seroconversión en muestras pareadas (tomadas con intervalos de 10-15 días), estamos ante una infección reciente. El objetivo de este trabajo fue estudiar poblaciones caprinas con la prueba MAT para leptospirosis en el departamento Belgrano ubicado al noroeste de la provincia de San Luis, Argentina.

Materiales y métodos: En base a los antecedentes de prevalencia de caprinos con leptospirosis del 23 %, aceptando un error relativo del 30% y fijando un nivel de confianza del 95% se determinó, mediante un diseño de muestreo en dos etapas, que el número mínimo de establecimientos caprinos a incluir sería de 50. Se analizaron poblaciones estratificadas según el número de animales/ majada: majadas de hasta 100 animales, majadas entre 100 y 300 animales y majadas con más de 300 animales (Tabla 1). Se extrajo una única muestra de suero por caprino por venipunción de la vena yugular. Los sueros caprinos fueron congelados y luego enviados para su análisis al laboratorio de leptospirosis de INTA Castelar, referencia de OIE. Los sueros caprinos fueron enfrentados a 9 serovares Ballum Castellonis, Canicola Canicola, Grippotyphosa Grippotyphosa, Icterohemorrhagiae Copenhageni, Pomona Pomona, Pyrogenes Pyrogenes, Wolffi 3705, Tarassovi Perepelicin y Hardjo Hardjoprajitno. Los títulos de Ac iguales o mayores a 1/100 se consideraron positivos (Comité Científico Permanente de Leptospirosis, AAVLD).

Resultados

En total, 523 sueros caprinos fueron analizados provenientes de 50 establecimientos del Departamento de Belgrano, provincia de San Luis. Se encontró que 6 establecimientos (12 %) fueron positivos, y sobre los 523 animales muestreados, 23 ejemplares fueron positivos (4,4%) a al menos un serovar de *Leptospira* spp. Fueron positivos al serovar Pomona Pomona el 80 %, seguido de Canicola Canicola 15 % y Wolffi 3705 5 %.

Tabla 1: Establecimientos y caprinos positivos según el estrato

Estratos (n° anim.)	Establecimientos		Caprinos	
	POS	TOTAL	POS	TOTAL
≤ 100	0	44	0	344
101- 300	5	5	14	119
> de 300	1	1	9	60
TOTAL	6	50	53	523

Discusión: Estos resultados preliminares son una aproximación a la prevalencia de leptospirosis en caprinos del departamento Belgrano de la provincia de San Luis. La importancia productiva y zoonótica de la leptospirosis sugiere que la misma debe ser atendida. Si bien títulos de Ac registrados indican que estos animales estuvieron en algún momento en contacto con cepas de *Leptospira* spp. sería a futuro necesario un muestreo pareado para evaluar las infecciones activas por esta bacteria. Si bien la leptospira se disemina con mayor facilidad en regiones donde hay humedad y abundante agua, en zonas semiáridas también está presente y puede ocasionar problemas sanitarios, por lo que testear esta zoonosis es importante en todas las regiones de nuestro país. Los resultados de MAT aportan información adicional al veterinario para que, conociendo la situación epidemiológica de los rodeos, pueda obtener un diagnóstico preciso, y controlar la salud de los caprinos, así como cuidar la salud de las familias rurales que puedan estar en situación de riesgo.

Referencias

-Suárez, V.H., Rosetto C.B., Gaido A.B., Salatin, A.O, Bertoni, E.A., Dodero, A.M., Viñabal, A.E., Pinto, G., Brihuega, B., Romera S.A. y Maidana, S. Prácticas de Manejo y Presencia de Enfermedades en Majadas caprinas del Chaco Salteño. Vet. Arg. vol. XXXII N° 332, 1-24, Diciembre 2015.

- Martín P, Tunes M, Gomez M, Acosta M, Anselmino F, Del Curto B, Brihuega B, Arauz S, Giboin G, La Malfa J, Puigdelibol M, Vinocur F, Fauret N, Linzito O, Stanchi N. 2015. Seroprevalencia de Leptospirosis en cabras (*Capra hircus*) en dos áreas de la Región Cuyana de la Argentina. Rev. REIE vol.9, 2014 ISSN (Electrónica) 0329-8507 (Impresa) 0329-8493 p 27.

- Bibiana Brihuega, Mara Martínez, Graciela Romero, Sylvia Grune. 2013. Leptospirosis en producciones de subsistencia de pequeños rumiantes. Revista Argentina de Zoonosis y Enfermedades Emergentes. Vol VIII N 2. Agosto 2013.

E23-DISTRIBUCIÓN ESPACIAL DE LA SEROPREVALENCIA Y DE LOS FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LA BRUCELOSIS Y LEPTOSPIROSIS EN CANINOS DE MARÍA IGNACIA VELA

M. Rivero¹, B. Morón², J. Silva¹, E. Scialfa^{3,4}, M. Molina Mola¹, M. Olivera¹, R. Perdomo¹, E. Rau¹, A. Aguiar, M. Carrizo¹, J. Passucci¹, F. Moreno⁵, M. Signorini⁶, S. Esté¹.

1. Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN-CONICET-CIC) Facultad de Ciencias Veterinarias Universidad Nacional del Centro de la Pcia. de Bs. As.- 2. ESCS-UNCPBA.- 3. Fac. de Agronomía-UNCPBA-4. Zoonosis Rurales de Azul, Ministerio de Salud de la Pcia. de Bs. As.- 5. INTA Balcarce.-6. FCV-UNL (CONICET).

e-mail: mrivero@vet.unicen.edu.ar

Introducción: La brucelosis y la leptospirosis son zoonosis de alto impacto en la salud animal y humana. La brucelosis canina es ocasionada por *Brucella canis* aunque los canes pueden infectarse y ser portadores de especies lisas de *Brucella* como *B. abortus*; *B. melitensis* y *B. suis* (MSal, 2013). El agente etiológico de la leptospirosis es una espiroqueta del género *Leptospira*, especie *L. interrogans*, que afecta a los animales y al hombre (MSal, 2014). La población canina puede exponerse a estas infecciones a través del contacto con animales portadores, orina u otros fluidos infectados presentes en el medio ambiente; por vía congénita o neonatal y por transmisión sexual. La incidencia de las zoonosis en la población humana y animal dependen del medio (urbano o rural), las condiciones ambientales, y la presencia del hospedador en el lugar (Scialfa, 2014). La distribución espacial de estas enfermedades depende del patrón geográfico que siguen los factores de riesgo. La identificación de áreas geográficas que presentan mayor frecuencia de casos y de los factores de riesgo brindaría la información necesaria para la toma de decisiones en Salud Pública. María Ignacia Vela es una comunidad rural con características que podrían resultar propicias para la presentación de Brucelosis y Leptospirosis canina. No existen suficientes estudios en la comunidad rural que detecten patrones espaciales de estas enfermedades. El objetivo del presente trabajo es analizar la distribución espacial de la seroprevalencia y de los factores de riesgo asociados a la brucelosis y leptospirosis en caninos de María Ignacia Vela.

Materiales y métodos: Mediante un muestreo no probabilístico por conveniencia se tomaron muestras de sangre de 77 canes y se encuestó a los propietarios utilizando un cuestionario diseñado para tal fin en el que se indagó sobre los posibles factores de exposición que pudieran estar asociados a las infecciones. Se georeferenciaron (latitud/longitud) las zonas donde habitaban y/o permanecían las mascotas (domésticas y callejeras). Los anticuerpos (Ac) anti *S-Brucella* (*B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*) se detectaron mediante la prueba del antígeno tamponado en placa (BPA). Los Acs anti *R-Brucella* (*B. canis*) se determinaron por microaglutinación rápida en placa (RSAT) con el agregado de 2 mercaptoetanol (RSAT-2ME). Para la detección de Acs anti-*Leptospira* se utilizó la técnica de aglutinación microscópica con antígenos vivos (MAT). Con los datos recabados y los resultados de laboratorio se conformó una base de datos empleando Epi Info v.3.5.3 (2011). El análisis espacial se realizó a partir de georeferenciación del lugar de residencia de cada individuo, la cual se asoció a la base de datos descripta y se visualizó la distribución espacial mediante el programa QGIS 2.10.1 (2004) y Google Earth. Se identificaron los *clusters* utilizando el modelo de distribución de probabilidades de Bernoulli con el programa SaTScan v9.4.2 (2015). **Resultados:** Todos los sectores de la localidad se encontraron representados de manera espacial. Las muestras incluyeron 77 canes, de los cuales 48 (62,3%) fueron

hembras. El rango de edad fue de 5 meses a 11 años (edad promedio 2,5 años, SD 2,76). El 1,4% de las muestras analizadas fueron positivas a BPA, el 10,1% fueron positivas a la técnica de RSAT-2ME y el 29,3% resultaron positivas a la técnica de MAT (Serogrupos *Icterohaemorrhagiae*, *Hebdomadis*, *Sejroe*, *Canicola*, *Grippityphosa* y *Ballum*). En el análisis espacial (Figura 1) se encontraron *clusters* significativos ($p < 0,05$) para la presencia de Acs anti-*B. canis* ($p = 0,016$), *L. Ballum* ($p = 0,046$), *L. Canicola* ($p = 0,046$) y *L. Hebdomadis* ($p = 0,012$). Se encontraron agrupamientos significativos de la mayoría de los factores de riesgo analizados. Asimismo, se solaparon los *clusters* del factor "acceso a plaza" y el de la seropositividad a *B. canis*. También, se encontró una zona delimitada de mayor riesgo, donde se superpusieron los agrupamientos significativos de los *clusters* de los serogrupos de *Leptospira* junto con los de las variables: trabajo rural con animales; contacto con roedores; contacto con porcinos, contacto con equinos, contacto con aves de corral, contacto con lagomorfos, acceso a zanjones y hábitos de caza de los canes.

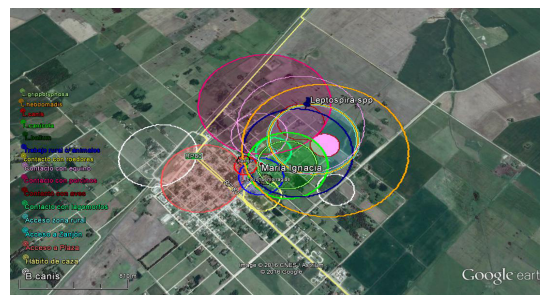


Fig. 1: *Clusters* detectados en el análisis espacial.

Discusión: El análisis espacial fue de utilidad para conocer la distribución de los casos y los factores asociados, indicando una posible relación entre las características descriptas en el ámbito de María Ignacia Vela y la aparición de estas enfermedades zoonóticas. Se ha detectado que en la zona no periférica de la localidad el factor "acceso a plaza" se asociaría con la seropositividad de la población canina a *B. canis*. Las zonas con mayor riesgo de presencia de Acs anti-*Leptospira* spp. se asociarían a características más rurales donde el contacto de los canes con otras especies y los hábitos de trabajo rural o de caza propiciarían la presentación de dicha infección.

Bibliografía: Ministerio de Salud de la Nación Argentina. 2013. Enfermedades infecciosas/ Brucelosis. GUIA PARA EL EQUIPO DE SALUD N° 12.

-Ministerio de Salud de la Nación Argentina. 2014. Enfermedades infecciosas/ Leptospirosis. GUIA PARA EL EQUIPO DE SALUD N° 19.

-Scialfa, E. (2014). Diagnóstico bacteriológico, serológico y molecular de la Leptospirosis en animales silvestres de la provincia de Buenos Aires. III Congreso Panamericano de Zoonosis. La Plata, Argentina.

E24- EPIDEMIOLOGÍA DE BRUCELOSIS Y LEPTOSPIROSIS CANINA EN MARIA IGNACIA VELA.

M. Rivero¹, J. Silva¹, E. Scialfa^{2,3}, M. Molina Mola¹, M. Olivera¹, R. Perdomo¹, E. Rau¹, A. Aguiar, M. Carrizo¹, J. Passucci¹, M. Signorini⁴, S. Estein¹.

Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN-CONICET-CIC) Facultad de Ciencias Veterinarias Universidad Nacional del Centro de la Pcia. de Bs. As.- 2. Fac. de Agronomía-UNCPSA-3. Zoonosis Rurales de Azul, Ministerio de Salud de la Pcia. De Bs. As.- 4. FCV-UNL (CONICET). e-mail: mrivero@vet.unicen.edu.ar

Introducción: La brucelosis y la leptospirosis son zoonosis de alto impacto en la salud animal y humana. La brucelosis es causada por microorganismos del género *Brucella*, *B. abortus*; *B. melitensis*; *B. suis* y *B. canis* son las especies patógenas para el hombre (MSal, 2013). El agente etiológico de la leptospirosis es una espiroqueta del género *Leptospira*, especie *L. interrogans* (MSal, 2014). La población canina está expuesta a estas infecciones a través del contacto con animales portadores, con orina u otros fluidos infectados presentes en el medio ambiente; por vía congénita o neonatal y por transmisión sexual. La descripción y la cuantificación de estas zoonosis y el estudio de la asociación entre la exposición a determinados factores y la enfermedad brindarían información necesaria para la toma de decisiones en Salud Pública. El objetivo general es conocer la prevalencia de la brucelosis y la leptospirosis en caninos de la población rural de María Ignacia Vela e identificar los factores asociados a su presentación. **Materiales y métodos:** Mediante un muestreo por conveniencia se tomaron muestras de sangre a 77 canes. Mediante un cuestionario diseñado *ad-hoc* se indagó sobre los posibles factores asociados con la infección. Los anticuerpos anti *S-Brucella* (*B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*) se detectaron mediante la prueba del antígeno tamponado en placa (BPA). Los anticuerpos anti *R-Brucella* (*B. canis*) se determinaron por micro-aglutinación rápida en placa con el agregado de 2-mercaptoetanol (RSAT-2ME). Para la detección de anticuerpos anti-*Leptospira* se utilizó la técnica de aglutinación microscópica con antígenos vivos (MAT). Se determinó la prevalencia de anticuerpos anti-*Brucella* discriminando entre especies lisas y *B. canis*; anticuerpos anti-*Leptospira* spp. y para cada serogrupo. Se estimó el intervalo de confianza del 95% (IC 95%). Los factores asociados a la presencia de anticuerpos se analizaron en un análisis bivariado (prueba de Chi² o Test exacto de Fisher). Posteriormente, se efectuó un análisis multivariado, utilizando la técnica de regresión logística. Se calcularon los *Odds Ratio* (OR), utilizando un 95% de nivel de confianza. Los análisis estadísticos se efectuaron con los programas Epi Info v.3.5.3 (2011) y SAS, v.9.3 (2015). **Resultados:** De los 77 canes incluidos en el estudio, 48 (62,3%) fueron hembras. El rango de edad fue de 5 meses a 11 años (edad media 2,5 años, SD 2,76). Treinta y tres canes (45,2%) fueron regalados a sus dueños; 29 (39,7%) provenían de protectora o eran callejeros; 7 (9,6%) eran hijos de mascota propia; 3 (4,1%) se adquirieron en criaderos y un animal (1,4%) era originariamente de veterinaria. En la Tabla 1 se observan las exposiciones de riesgo más frecuentes de las mascotas.

Tabla 1. Factores de riesgo de los caninos estudiados.

EXPOSICION	FRECUENCIA n/N (%)
Contacto con otros caninos	52/77 (67,5)
Roedores en domicilio	48/75 (64)
Acceso a aguas estancadas	38/72 (52,8)
Acceso a calle	31/77 (40,3)
Acceso a zona rural	29/77 (37,7)
Contacto con porcinos	10/77 (13)

El 1,4% (IC 95% 0-7,7) de las muestras analizadas fueron positivas a BPA, mientras que el 10,1% (IC95% 4,5-19) y el 29,3% (IC95% 19,7-40,4) de las muestras analizadas fueron positivas a la técnica de RSAT-2ME y a MAT, respectivamente. La seroprevalencia según serogrupos encontrados se describe en la Tabla 2.

Tabla 2. Serogrupos de *Leptospira* que reaccionaron mediante MAT.

SEROGRUPO	Frecuencia n/N (%; IC 95%)
Icterohaemorrhagiae	10/82 (12,2; 6-21,3)
Hebdomadis	9/82 (11; 5,1-19,8)
Sejroe	6/82 (7,3; 2,7-15,2)
Canicola	6/82 (7,3; 2,7-15,2)
Grippotyphosa	3/82 (3,7; 0,8-10,3)
Ballum	3/82 (3,7-0,8-10,3)

Se encontró que el contacto con porcinos fue un factor asociado a la presencia de anticuerpos anti-*Leptospira* (OR 4,5, IC95% 1,14-17,62). El 60 % de los individuos que tuvieron contacto con porcinos presentaron serología positiva a *Leptospira*, mientras que de los canes que no tuvieron contacto con porcinos, el 25% fue positivo. Asimismo, la presencia de roedores se asoció de manera bivariada a la presencia de anticuerpos anti-*Leptospira* serogrupo Sejroe serovar Hardjo (p=0,021).

Discusión: La baja seroprevalencia detectada por BPA (1,4%) indica que la infección por *S-Brucella* estaría controlada en la mayoría de las especies domésticas. La proporción de canes positivos a *B. canis* se encuentra cercana a los valores esperados para perros vagabundos en Argentina (MSal, 2013). La seroprevalencia encontrada podría deberse a la cercanía de los perros domiciliarios con los callejeros, al estrecho contacto con otras especies y al fácil acceso a aguas y ambientes contaminados, aunque estos factores no se asociaron estadísticamente a la infección. La elevada prevalencia de anticuerpos anti-*Leptospira* presenta concordancia con valores descriptos por otros autores (Samartino, 2007). Los serogrupos detectados con mayor frecuencia (*Icterohaemorrhagiae* y *Hebdomadis*) tienen como reservorios a roedores de la especie *Rattus rattus* y al ganado porcino (Seijo, 2002). El contacto de los canes con porcinos, más la presencia de roedores en el ambiente, serían los factores de riesgo más vinculados con esta seropositividad. La población canina es un posible factor de riesgo para la población humana expuesta. Es importante reforzar los programas de control sanitario de los canes (domiciliarios y vagabundos), a través de la vacunación contra leptospirosis y castración, como así también, mejorar las medidas de saneamiento ambiental a fin de evitar la proliferación de roedores.

Bibliografía: -Ministerio de Salud de la Nación Argentina. 2013. Enfermedades infecciosas/ Brucelosis. GUIA PARA EL EQUIPO DE SALUD N° 12.
-Ministerio de Salud de la Nación Argentina. 2014. Enfermedades infecciosas/ Leptospirosis. GUIA PARA EL EQUIPO DE SALUD N° 19.
-Seijo, A. 2002. Leptospirosis humana en la República Argentina. CCLAAVLD. Fundación Mundo Sano, Bs. As. P. 7-12.
-Samartino, L. 2007. Serología positiva a *Leptospira interrogans*, serovar cynopteri en caninos de la ciudad de Buenos Aires, Argentina. In Vet 9. P. 59-65.

E25- PREVALENCIA DE ENTEROPATÓGENOS ASOCIADOS A LA EDAD Y AL SÍNDROME DIARREICO EN TERNEROS DE RODEOS LECHEROS DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES.

Garro, C.J.¹, Morici, G.², Tomazic, M.^{2,4}, Vilte, D.³, Bok⁵, M., Vega, C.⁵, Parreño, V.⁵, Schnittger, L.^{2,4} 1. Grupo de Epidemiología y Medicina Preventiva. INTA. 2. Área de Parasitología. INTA. 3. Área de Bacteriología. INTA. 4. CONICET. 5. Laboratorios de virus diarreicos. INTA. E-mail: garro.carlos@inta.gob.ar

Introducción

El síndrome diarreico (SD) es una importante causa de morbilidad y mortalidad en terneros en rodeos lecheros. Su origen es multifactorial y varios enteropatógenos (EPs), como *Cryptosporidium parvum*, rotavirus grupo A (RVA), coronavirus (CoV), *Escherichia coli* productora de toxina Shiga (STEC) y *Salmonella* spp., han sido relacionados. Sin embargo, la frecuencia de EPs se estima en muchos casos a través del reporte de laboratorios de diagnóstico. El objetivo de este estudio es determinar la prevalencia de EP en terneros de rodeos lecheros de la provincia de Buenos Aires y evaluar su asociación con el SD y la edad.

Materiales y métodos

Un estudio transversal con un muestreo en dos etapas fue realizado en rodeos lecheros de la provincia de Buenos Aires. Se asumió, en base a estudios previos (Bellinzoni et al., 1990), una prevalencia de rodeos con EPs del 75%. Se fijó un nivel de confianza del 95% y un error en la estimación del 15%. En total, 31 rodeos lecheros y un mínimo de 12 terneros por rodeo, seleccionados al azar, fueron evaluados. La apariencia física de las heces fue categorizada en diarrea (heces líquidas a semilíquidas) y no diarrea (heces firmes o que se deforman levemente). La ocurrencia de diarrea fue el indicador de SD. Se estudió la prevalencia de 5 EPs: *C. parvum*, RVA, CoV, STEC y *Salmonella* spp. La presencia de ooquistes de *C. parvum* se determinó a través de microscopía óptica y su especie por PCR-RFLP. La presencia de RVA y CoV se determinó por ELISA. La presencia de STEC se determinó por aislamiento en agar MacConkey y PCR específica para la detección de las toxinas Shiga del tipo 1 y del tipo 2. La presencia de *Salmonella* spp. se determinó por pre-enriquecimiento en caldo Tetratiónato y Rappaport-Vassiliadis con posterior cultivo placas de agar Bismuto Sulfito y XLD (Xilosa, Lisina, Desoxicolato). Para comparar la frecuencia de EP según la edad, se conformaron dos grupos de terneros según el valor de la mediana. Se evaluó, a través del test chi-cuadrado, la asociación estadística entre los EPs y el SD y entre los EPs y la edad.

Resultados y Discusión

En total, se colectaron 672 muestras de heces de terneros pertenecientes a 31 rodeos lecheros. A nivel individual, la prevalencia de excreción de *C. parvum*, RVA, CoV y STEC fue del 19% (125/672), 7% (49/672), 6% (38/672) y 3% (23/672), respectivamente. No se detectó la presencia de *Salmonella* spp. El SD estuvo significativamente asociado con la excreción de *C. parvum* ($p = 0,0001$) y RVA ($p = 0,0096$) pero no estuvo asociado a la excreción de CoV ($p = 0,3260$) y STEC ($p = 0,2214$). La mediana de edad fue 20 días por lo que se comparó la prevalencia de EP entre los terneros de 1 a 20 días de edad versus los terneros de 21 a 90 días. Para todos los EPs se observó una disminución de la prevalencia con el incremento de la edad (Tabla 1), con similar orden de relevancia (*C. parvum* > RVA > CoV > STEC). La disminución de la prevalencia con el incremento de la edad fue significativa para *C. parvum* ($p < 0,0001$), RVA ($p = 0,0014$) y CoV ($p = 0,0001$) pero no para STEC ($p = 0,6231$). A nivel rodeo, la prevalencia de excreción de *C. parvum*, RVA, CoV y STEC fue del 71% (22/31), 55% (17/31), 35% (11/31) y 15% (5/31), respectivamente.

Nuestros resultados muestran que *C. parvum* es el EP más prevalente en terneros de rodeos lecheros (Tabla 1). Por lo cual, debe atenderse su impacto como zoonosis y las medidas de manejo que limiten su frecuencia. En coincidencia con estudios previos (Bellinzoni et al., 1990), RVA fue el segundo EP más prevalente. Teniendo en cuenta estos hallazgos, *C. parvum* y RVA serían los EP más importantes en el desarrollo de la patogenia del SD, mientras que CoV y STEC, tendrían un rol menor. La mayor prevalencia de *C. parvum*, RVA y CoV entre los 1 y 20 días sugiere una mayor susceptibilidad de los terneros jóvenes, en consistencia con lo reportado por la literatura (referencias). La disminución de

la prevalencia con la edad podría deberse al desarrollo inmunológico del ternero (Silverlas et al., 2009). La presencia de STEC en terneros es baja aunque alerta sobre un potencial riesgo zoonótico. Mientras que, la ausencia de *Salmonella* spp., sugiere que su presentación es esporádica en terneros de la región en estudio. Este trabajo revela los EP más prevalentes y asociados al SD en terneros y puede orientar en el desarrollo estrategias preventivas y terapéuticas que los contemplen.

Tabla 1: Prevalencia de EPs según la edad de los terneros

Enteropatógenos	Edad	
	1 a 20 días	21 a 90 días
<i>C. parvum</i>	30 % (104/346)	6% (21/326)
RVA	10% (36/346)	4% (13/326)
CoV	9% (31/346)	2% (7/326)
STEC	4% (13/346)	3% (10/326)

Conclusiones

Los EP más prevalentes a nivel rodeo y a nivel individual fueron, en orden de relevancia: *C. parvum*, RVA, CoV y STEC. No se detectó la presencia de *Salmonella* spp. El SD en terneros estuvo significativamente asociado a la excreción de *C. parvum* y RVA. La prevalencia de EPs disminuye con la edad.

Bibliografía

- BELLINZONI, R.C., BLACKHALL, J., TERZOLO, H.R., MOREIRA, A.R., AUZA, N., MATTION, N., MICHEO, G.L., La TORRE, J.L., SCODELLER, E.A., 1990. Microbiology of diarrhoea in young beef and dairy calves in Argentina. Rev Argent Microbiol 22, 130-136.
- SILVERLAS, C., EMANUELSON, U., DE VERDIER, K., BJÖRKMAN, C., 2009. Prevalence and associated management factors of *Cryptosporidium* shedding in 50 Swedish dairy herds. Prev. Vet. Med. 90 (3-4), 242-253.

Agradecimientos: Este trabajo fue financiado por el PNSA N° 1115053 de INTA, PICT 2013-1708 y PICT 2012-0695 de ANPCyT y PID 8-2015 de la FUM.

E26- ESTUDIO SEROEPIDEMIOLÓGICO DE LEPTOSPIROSIS CANINA EN EL PARTIDO DE LOMAS DE ZAMORA

S. Moldes⁽¹⁾, P.L.Martin⁽²⁾ y E. Mortola⁽³⁾

⁽¹⁾Medica Veterinaria - Matrícula Provincial 12627, UNLP; ⁽²⁾Laboratorio Central y ⁽³⁾Cátedra de Inmunología Veterinaria de la Facultad de Cs. Veterinarias de UNLP; Calle 60 y 118. 1900 – La Plata. mortola@fcv.unlp.edu.ar

Introducción

Los estudios seroepidemiológicos permiten estudiar la distribución de las enfermedades de manera indirecta, mediante la detección sérica de marcadores de infección y de inmunidad. La leptospirosis es una enfermedad infectocontagiosa y antroponozoonótica de distribución mundial provocada por una bacteria del género *Leptospira*. Las cepas patógenas afectan indistintamente al hombre, a animales domésticos y silvestres. La enfermedad puede transmitirse directamente entre hospedadores en contacto estrecho, a través de la orina, por vía venérea, transferencia fetal, mordeduras o ingestión de tejidos infectados ya que el microorganismo penetra a través de mucosa o piel sana o dañada. La aparición de la infección y/o enfermedad estará condicionada no sólo por la presencia de animales que eliminan *Leptospira spp.*, sino también, por las condiciones socioeconómicas, culturales y climáticas de cada región que contribuyen al mantenimiento de *Leptospira spp.* en el ambiente y favorecen su contacto con los hospedadores (Levett, 2004). Para el diagnóstico de la enfermedad, los métodos indirectos son aquellos que detectan la presencia de anticuerpos formados en respuesta a la entrada del agente y constituyen los métodos de laboratorio más utilizados en la clínica diaria. En el inmunoanálisis, se ponen de manifiesto, las inmunoglobulinas que hacen su aparición entre el 5 y 10 días de comenzada la fase invasiva, siendo las mismas en primer lugar del tipo IgM y posteriormente las IgG. Las primeras, pueden detectarse hasta 3 meses de comenzada la enfermedad, las segundas, son factibles de cuantificar hasta 2 años después. En Argentina se estima una prevalencia de 10 a 60% aunque estos valores pueden variar de acuerdo a la zona y momento del estudio (Martin y cols. 2014; Rubel y cols. 1997). Para el diagnóstico de la enfermedad en caninos, se utilizan comúnmente las pruebas de aglutinación macroscópica en placa con antígeno termo resistente (TR) y la aglutinación microscópica (MAT), siendo esta última la de referencia (Brihuega, 2010). Los objetivos del presente trabajo fueron: 1) Evaluar la técnica de TR como tamiz diagnóstico de leptospirosis canina; 2) Determinar la frecuencia de leptospirosis canina en el Partido de Lomas de Zamora, Buenos Aires; proporcionando información y herramientas técnicas para el control epidemiológico de la enfermedad.

Materiales y métodos.

Se utilizaron 100 muestras de suero provenientes de caninos con propietario, que ingresaron al Hospital Veterinario Banfield, Partido de Lomas de Zamora, zona sur del Gran Buenos Aires, durante el período establecido entre enero y junio de 2016. Se muestrearon todos los animales que ingresaron al Hospital con signología compatible con leptospirosis. Para cada uno de los pacientes, se confeccionó una ficha electrónica donde se detallaron los siguientes datos: edad, raza, sexo, lugar de residencia, signos clínicos, motivo de consulta, plan de vacunación. Para la detección de anticuerpos se utilizaron las pruebas de TR (Antígeno proporcionado por el Laboratorio del

INER, Dr. Coni, Santa Fe) y MAT para los serovares: Castellonis, Canicola, Copenhageni, Pomona, Pyrogenes, Grippotyphosa, Wolffii, Hardjo y Tarassovi. Se partió de una dilución 1/100 (suero + antígeno) enfrentando cada suero con los distintos antígenos para verificar la presencia de anticuerpos. Se consideró reactivo un suero que aglutinara el 50 % de *Leptospira spp* en comparación con un control. Aquellos sueros que reaccionaron en la primera prueba fueron diluidos en progresión geométrica en base 2. La última dilución que presentó la aglutinación mencionada fue considerada como título final. Los resultados fueron analizados estadísticamente mediante software de dominio público (WinEpi). En nuestro estudio, consideramos como casos confirmados (animales positivos) aquellos que presentaron un título a MAT mayor o igual a 1/200, no vacunados contra leptospirosis y con signología clínica y parámetros de laboratorio compatibles con la enfermedad (Lilenbaum y cols. 2002).

Resultados y discusión

La prueba diagnóstica de TR evaluada presentó una sensibilidad de 68.0% y una especificidad de 73.5% (Intervalo de confianza de 99%). La baja sensibilidad y especificidad de la prueba de TR sugieren que no sería recomendable su uso como método diagnóstico de tamizaje, para la detección de leptospirosis canina. Resaltamos el uso de MAT como prueba de referencia. Asimismo, en la población estudiada se observó una prevalencia real del 18.1%, siendo el serovar Canicola el de mayor incidencia; mientras que, la prueba diagnóstica evaluada mostró una prevalencia aparente del 34.1%. Este estudio seroepidemiológico de leptospirosis canina en el Partido de Lomas de Zamora, presenta una temática original para la zona geográfica elegida y de interés no sólo para la medicina veterinaria sino también para la salud pública por ser esta enfermedad una afección zoonótica.

Bibliografía.

- 1- Levett P.N. Leptospirosis: A forgotten zoonosis? Clin. and App. Immunology Rev. 2004; 4: 435-448.
- 2- Brihuega, B. Leptospirosis- Técnicas diagnósticas. Rev. Enfermedades Infecciosas Emergentes (REIE) 2010; N 5
- 3- Rubel, D., Seijo, A., Cernigoi, B., Viale, A., Wisnivesky-Colli, C. *Leptospira interrogans* en una población del Gran Buenos Aires: variables asociadas con la seropositividad. Rev. Panam. Salud Pública/Pan Am. J. public Health 1997; 2 (2)102-105
- 4- Martin PL, Molina MC; Stanchi N; Corrada Y; Cuelli A; Cobos M; Ozaeta MB; De Palma V; Arauz MS. Prevalencia de leptospirosis en caninos de La Plata. Argentina. 2014. XX Reunión científico-Técnica de la Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorio de Diagnóstico.
- 5- Lilenbaum W., Ristow P., Fráguas SA., da Silva ED. Evaluation of a rapid slide agglutination test for the diagnosis of acute canine leptospirosis. Rev Latinoam Microbiol 2002; 44 (3-4): 124-12.

E27- PREVALENCIA DE TRICOMONOSIS Y CAMPYLOBACTERIOSIS EN RODEOS BOVINOS DE LA PROVINCIA DE SALTA

C. Gorchs¹, A. Mazzuca¹, M Burgos Zamudio¹, C Casaretto¹
1. Laboratorio San Isidro, Salta. carolina.gorchs@labsanisidro.com.ar

Introducción

Se conocen como enfermedades venéreas de los bovinos a la Tricomonosis, producida por el protozooario *Trichomona fetus*, y la Campylobacteriosis bovina, cuyo agente etiológico es *Campylobacter fetus*, *subsp venerealis* y *fetus* (bacilo delgado, curvado y Gram negativo) Estas enfermedades son conocidas por provocar mermas en los porcentajes de preñez entre el 15% y el 25%, o aún mayores, según se encuentren solas o asociadas. Ambas enfermedades producen muerte embrionaria, abortos y subfertilidad en las hembras, las cuales frecuentemente superan la infección, generando inmunidad. Los toros por su parte son portadores asintomáticos de la enfermedad, siendo los principales responsables de su transmisión. El diagnóstico de las enfermedades venéreas de los bovinos puede realizarse tanto a partir de fetos abortados, como a partir de muestras de hembras o toros. La Tricomonosis puede diagnosticarse mediante cultivo y observación directa o por PCR, mientras que la Campylobacteriosis se diagnostica por inmunofluorescencia directa o cultivo bacteriano. La herramienta de muestreo más frecuentemente utilizada para el diagnóstico es el raspaje prepuccial de la totalidad de los toros del rodeo.

El objetivo de este trabajo es presentar los resultados obtenidos para el diagnóstico de Tricomonosis y Campylobacteriosis en un laboratorio de la provincia de Salta durante el año 2015.

Materiales y Métodos

Se procesaron 8455 muestras para el diagnóstico de Tricomonosis y 8216 muestras para el diagnóstico de Campylobacteriosis.

Para el diagnóstico de Tricomonosis se procedió al cultivo de las muestras a 37°C (MedioTricho Azul®), y a su observación al microscopio óptico durante 10 días. En los casos en los que se observó presencia de protozoarios flagelados, se procedió a la realización de un extendido y coloración de Giemsa, para confirmar el diagnóstico por morfología. En algunos casos los aislamientos fueron además corroborados por PCR. Para el diagnóstico de Campylobacteriosis se utilizó la técnica de Inmunofluorescencia Directa (conjugado CAMPY AZUL®). La muestra que presento bacterias fluorescentes con la morfología típica de *C. fetus* se consideró positiva.

Resultados. Los resultados obtenidos a nivel individual se presentan en la siguiente tabla:

	Tricomonosis	Campylobacteriosis
Total de muestras evaluadas	8455	8216
Positivos	97 (1,15%)	31 (0,38%)
Negativos	8358	8185

A nivel rodeo, se encontró un 18% de establecimientos positivos a Tricomonosis (sobre un total de 89 campos) y 20% de establecimientos positivos a Campylobacteriosis (sobre 87 campos evaluados).

Discusión

Si bien los resultados obtenidos a nivel rodeo se asemejan a aquellos que han sido publicados en otras partes del país (Campero indica en últimos años indica una persistencia de la prevalencia hacia ambas enfermedades del 10 al 20 % de los rodeos); el porcentaje de toros positivos es menor a la observada en esos trabajos (2 al 3 % de toros afectados según Campero). Esto puede deberse a que realmente el porcentaje de toros infectados en NOA es menor, pero también puede tratarse de falsos negativos. Por lo que hemos observado a lo largo de estos años de trabajo, la presencia de falsos negativos puede deberse a malas condiciones de obtención de la muestra (suciedad, mala técnica de raspado, por ejemplo), como también al mal manejo de las muestras una vez obtenidas y/o a la demora para su remisión al laboratorio.

Resulta indispensable que los veterinarios de campo tomen consciencia de la importancia de su trabajo en la toma y remisión de muestra, y en el manejo e identificación de los animales para que los resultados de las técnicas de diagnóstico descriptas sean de utilidad en la mejora sanitaria de los rodeos

Bibliografía

Campero, C.M., 2002, Eficiencia productiva del rodeo de cría. Rev. Idia XXI 2, 127-131.

Comisión Científica Permanente de Enf, Venereas de los Bovinos, PROC. DE LABORATORIO PARA EL DIAG DE LA CAMPYLOBACTERIOSIS Y TRICOMONIASIS BOVINA, Balcarce, 1992

OIE (2008) Manual de la OIE sobre animales terrestres. http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/2.04.05.%20Campilobact%20g.%20bovina.pdf.

E 28- FACTORES ASOCIADOS A LA SEROPREVALENCIA DE CUATRO ENFERMEDADES REPRODUCTIVAS DE LOS BOVINOS EN EL PARTIDO DE OLAVARRÍA.

Späth, E.J.A.¹; Odeón, A.C.¹; Nagy Gyuris, G.²; Moore^{1,3}; D.P.; Armendano, J.I.^{1,4}.

1. INTA, EEA Balcarce, Grupo de Sanidad Animal, Ruta 226, km 73,5; 7620 Balcarce, Argentina.

2. Laboratorio Diagnóstico Olavarría, España 2251, Olavarría.

3. CONICET- INTA EEA Balcarce, Grupo de Sanidad Animal.

4. Becario y estudiante de MSc en Sanidad Animal de la Universidad Nacional de Mar del Plata.

Email del autor de referencia: spath.ernesto@inta.gob.ar

Introducción. Las enfermedades infecciosas de la reproducción son una de las principales causas de pérdidas en la cría bovina. Las infecciones por el virus de la Diarrea Viral Bovina (DVB), el Herpes Virus Bovino (HVB) y la neosporosis (*Neospora caninum*- N.c) están ampliamente distribuidas en la pampa húmeda. Brucelosis es la única que está bajo control oficial. El objetivo fue caracterizar estas cuatro enfermedades en bovinos de cría e identificar potenciales factores de riesgo.

Materiales y métodos. Se realizó un muestreo al azar, por el método en *dos etapas* en ganado bovino de cría en el distrito de Olavarría, provincia de Buenos Aires (36° 52'06,21"S; 60° 33'48,42"O). Se utilizó para el cálculo del n una prevalencia esperada del 0,08; error relativo del 0,2; confianza del 95 % y tasa de homogeneidad baja. El cálculo del n y la selección de los establecimientos se realizaron con el programa ProMESA v1.3. El tamaño de la muestra fue de 2220 sueros de 73 predios, tomando 30 de cada uno. La determinación de anticuerpos en suero para ambas infecciones virales fue realizada mediante una prueba estándar de seroneutralización (positivo 1:8) en INTA Balcarce. Brucelosis: se utilizaron las pruebas y criterios recomendados por SENASA: BPA y FPA. La detección de anticuerpos contra N.c. se realizó con la técnica de ELISA indirecto (CIVTEST BOVIS NEOSPOSA, Laboratorios Hipra SA) en las muestras de suero diluidas 1/100 en solución provista por el kit comercial; el resultado se interpretó de acuerdo a los criterios fijados por el proveedor. Estos dos análisis fueron realizados en el Laboratorio Diagnóstico Olavarría. A cada productor se le realizó una encuesta estructura con 50 preguntas relacionadas a la epidemiología de las 4 enfermedades. La relación entre la seroprevalencia a las 4 infecciones y los potenciales factores de riesgo registrados en las encuestas se evaluó mediante un análisis de regresión logística univariado y multivariado. Se obtuvo la significancia de cada asociación (X^2) y el *Odds Ratio* (OR) con sus IC al 95 %. Se utilizó el programa SAS para analizar los datos.

Resultados. Se obtuvieron 2189 muestras de 73 establecimientos y se completaron 71 encuestas.

Brucelosis: 32 muestras fueron positivas; la seroprevalencia fue 1,5 % (IC_{95%}: 1,0-2,0 %) y estas muestras pertenecían a 9 establecimientos (12,3 %). Además, 23 de las positivas pertenecían a solo dos establecimientos. De acuerdo a las encuestas, la *retención de vientres vacíos* aumento el riesgo de seropositividad en 6,7 veces (OR=6,7; IC_{95%}: 1,1-41,8; P=0,04), y la *retención de vientres que abortaron* aumento el riesgo de seropositividad a Brucelosis en 32,4 veces (OR=32,4; IC_{95%}: 2,6-409,1; P<0,01).

Neosporosis: 297 muestras fueron positivas; la seroprevalencia fue 13,6 % (IC_{95%}: 12,1-15 %). Solo en un predio no se detectaron muestras positivas. En los establecimientos con *servicio estacionado* el riesgo de seropositividad a N.c. fue 2,5 veces menor (OR=0,4; IC_{95%}: 0,2-0,5; P<0,01) y la inclusión de *alimento balanceado* en la dieta de los perros se asoció a una disminución en 1,4 veces del riesgo de seropositividad a N.c. (OR=0,7; IC_{95%}: 0,5-0,9; P=0,01).

DVB: 1023 muestras fueron positivas: 56,1 % (IC_{95%}: 53,8-57,9), todos los predios presentaron al menos un animal con anticuerpos. El uso de *vacuna contra IBR/DVB* disminuyó el riesgo de seropositividad a BVD en 1,7 veces (OR=0,6; IC_{95%}: 0,3-1,0; P=0,04).

HVB: 209 muestras fueron positivas, seroprevalencia 23 % (IC_{95%}: 21,9-25,5 %). Setenta de 73 establecimientos tuvieron reactores (98%). En establecimientos que utilizaron *vacuna reproductiva*, el uso en forma regular, dentro del plan sanitario, disminuyó el riesgo de seropositividad a HVB en 2,5 veces, en comparación con los que la utilizaron en forma ocasional (OR=0,4; IC_{95%}: 0,2-0,7; P<0,01).

Discusión

La prevalencia de brucelosis se encuentra en el rango superior de los valores descriptos para la región por el SENASA. Los factores de riesgo asociados a alta seroprevalencia ratifican la importancia de las medidas clásicas de control de la enfermedad: eliminar vacas no paridas y abortadas que son las que mantienen la infección en un rodeo. La seroprevalencia de N.c., tanto en bovinos como en rodeos, es algo mayor que la registrada por otros autores en la provincia de Buenos Aires en ganado bovino de cría. N.c. está presente en la región y hay transmisión horizontal y vertical en todos los establecimientos. El *servicio estacionado* y la alimentación de perros con *alimento balanceados* actuaron como factores de protección. Ambas prácticas pueden actuar reduciendo la potencial ingesta de restos infectados de placentas o fetos por parte de los perros en el campo, reduciendo de esta manera la probabilidad de transmisión horizontal.

Los resultados muestran la amplia distribución de HVB y del vDVB en la región estudiada. La prueba serológica utilizada no permite diferenciar si estos anticuerpos pertenecen a animales naturalmente infectados o a animales vacunados, o si hay una superposición de ambas situaciones. Sin embargo, teniendo en cuenta que las encuestas indican que la mayoría de las vacunaciones se realizaron pre-servicio (invierno/primavera), que los anticuerpos post-vacunales usualmente duran 4 a 6 meses y que el relevamiento fue realizado durante la preñez (otoño), podría especularse que la mayoría de los anticuerpos detectados son producto de la circulación viral. El uso de *vacunas reproductivas* estuvo asociado significativamente como factor de protección para ambas enfermedades virales.

Bibliografía.

- Moore, Campero, Odeón y colaboradores. 2002. Vet Parasitology. **107**:303-316
- Odeón, A.C.; Späth, E.J.A.; Paloma, E.J. y col. 2001. Rev. Med. Vet. (Bs As) **82**:216-220.
- SENASA. 2014. Informe muestreo brucelosis. www.senasa.gov.ar 21 p., consultado 28/06/2016.
- León, E, Duffy, S.J. 2010. ProMESA. Congr. Arg. Agro informática. ISSN 1852-4850, p 807-817.

Los autores agradecen al IPVCA por el apoyo financiero; a los Médicos Veterinarios de FUNSAGA, por la extracción de las muestras de sangre y la realización de las encuestas y a la Municipalidad de Olavarría y al Colegio de Veterinarios Distrito 14 de la provincia de Bs. As por el apoyo en la organización general.

INMUNOLOGIA

11- COMPARACIÓN DE DIFERENTES PRUEBAS SEROLÓGICAS PARA EL DIAGNÓSTICO DE NEOSPOROSIS BOVINA

B. Valentini¹, S. Caspe², E. Primo¹, S. Torioni de Echaide¹, I. Echaide¹.
¹INTA EEA Rafaela CC 22, 2300 Rafaela, Santa Fe. ²INTA EEA Mercedes.
 valentini.beatriz@inta.gob.ar

Introducción

La neosporosis bovina es causada por *Neospora caninum* protozoario Apicomplexa, cuyo principal efecto patógeno es el aborto. *N. caninum* se transmite principalmente por vía transplacentaria con gran eficiencia o a partir de alimentos contaminados con ooquistes descargados al medio ambiente con la materia fecal de cánidos. Estos últimos son los hospedadores definitivos, donde realiza la etapa coccidial del ciclo. En bovinos persiste en quistes tisulares establecidos principalmente en el SNC. La neosporosis está ampliamente distribuida en rodeos bovinos de diferentes regiones de Argentina y produce importantes pérdidas económicas. La inmunofluorescencia indirecta (IFI), es la prueba serológica más difundida para el diagnóstico de neosporosis bovina, aunque algunos laboratorios han comenzado a reemplazarla por las pruebas inmunoenzimáticas como ELISA indirecto (ELISAI) y de competición (cELISA) comerciales o desarrollados "in house". Debido a la dificultad para obtener un "gold standard" accesible y de calidad, la validación se realiza comúnmente por comparación entre pruebas serológicas. En este trabajo se comparó el comportamiento de diferentes pruebas serológicas para la detección de neosporosis bovina en rodeos de cría del Centro-Este de Santa Fe.

Materiales y métodos

Se evaluaron tres pruebas serológicas (IFI, ELISAI y cELISA-R) desarrolladas "in house" en tres etapas diferentes y un cELISA comercial (cELISA-VMRD). La prueba de IFI se evaluó en dos diluciones. Todas las pruebas "in house" se basaron en antígenos nativos obtenidos en cultivos *in vitro*. Los resultados se expresaron en % de Inhibición (%) para cELISA, % de Positividad (%P) para ELISAI y dil⁻¹ para IFI. Los puntos de corte (PC) para diferenciar positivo/negativo fueron ≥30%I (cELISA-VMRD), ≥25%I (cELISA-R), ≥22%P (ELISAI) y 100⁻¹ y 200⁻¹ para IFI. Para este estudio se seleccionaron 16 rodeos de cría y se analizaron al azar 22 muestras de bovinos adultos por rodeo. Las 352 muestras de suero se analizaron en paralelo con las pruebas serológicas mencionadas. Se determinó la prevalencia de neosporosis bovina mediante las distintas pruebas serológicas y se analizó la dispersión de los resultados a través del coeficiente de variación (CV). Se evaluó la concordancia entre pruebas, índice kappa, error estándar e intervalo de confianza (95%CI). Se obtuvo la sensibilidad (Se) y especificidad (Es) de cada prueba respecto del resultado (positivo/negativo) definido por la mayoría de las pruebas ("gold standard"). Se optimizó el rendimiento de ELISAs mediante el análisis ROC.

Resultados

Todas las pruebas detectaron bovinos positivos a neosporosis en los 16 rodeos. La prevalencia promedio por rodeo varió entre el 9% y 59%. Las diferencias entre pruebas se observó en el diagnóstico de 1 ó 2 animales en algunos rodeos, excepto para IFI-100 que mostró mayor dispersión de casos positivos. Los CV entre las prevalencias observadas por rodeo fueron ≤ 0,10 en 4 casos, entre 0,10-0,20 en 8 casos, entre 0,21-0,30 en 2 casos y >0,30 en los 2 restantes. La mayor concordancia fue del 96,8% y se observó entre cELISA-VMRD y cELISA-R y de 94,8% entre IFI-100 y IFI-200 (Tabla 1). El análisis ROC según el "gold standard" determinado por el resultado de la mayoría de las pruebas, mostró variación del PC, Se y Es de los ELISAs (Tabla 2).

Tabla 1. Neosporosis bovina. Concordancia (C) entre las diferentes pruebas serológicas. Índice kappa (K) y error estándar. Intervalo de confianza 95%.

	cELISA-VMRD	cELISA-R	ELISA-I	IFI-100	IFI-200
cELISA-VMRD					
cELISA-R	C= 96,5 % k = 0,927 (0,0207) 0,887-0,968				
ELISA-I	C= 91,5 % k = 0,790 (0,0340) 0,724-0,857	C= 89,5 % k = 0,781 (0,0336) 0,715-0,847			
IFI-100	C= 88,3 % k = 0,744 (0,0374) 0,671-0,818	C= 84,0 % k = 0,664 (0,0406) 0,584-0,743	C= 87,7 % k = 0,722 (0,0394) 0,645-0,799		
IFI-200	C= 90,6 % k = 0,788 (0,0347) 0,720-0,856	C= 86,0 % k = 0,706 (0,0379) 0,632-0,781	C= 91,2 % k = 0,790 (0,0358) 0,720-0,860	C= 94,8 % k = 0,881 (0,0270) 0,828-0,934	

Tabla 2. Rendimiento de las pruebas serológicas. Punto de corte (PC), Sensibilidad (Se) y Especificidad (Es) antes (estatus 1) y después de la optimización (estatus 2) respecto del resultado de la mayoría de las pruebas.

Prueba	Estatus	PC (%; dil ⁻¹)	Se (%)	Es (%)
cELISA-VMRD	1	≥30	98,2	94,1
	2	≥42	97,4	97,0
cELISA-R	1	≥25	99,1	91,1
	2	≥37	98,3	95,8
ELISA-i	1	≥22	89,5	97,4
	2	≥21	93,9	96,2
IFI-100	-	100	90,4	93,2
IFI-200	-	200	87,0	99,2

Discusión y conclusiones

Los resultados indican que a pesar de las diferencias de rendimiento entre pruebas, todas serían útiles para estudios epidemiológicos poblacionales. La baja sensibilidad de las pruebas de IFI, estaría relacionada al "gold standard" utilizado, donde todas las pruebas aportaron peso para definir el estatus de infección. La IFI ha sido ampliamente usada como prueba de referencia, lo que ha generado un sesgo ya que condiciona el rendimiento de las pruebas evaluadas. Los cELISA tienen la ventaja de que los resultados están mucho más polarizados que ELISA-i y admite cambios del PC sin afectar significativamente la Se y Es de la prueba.

Proyecto INTA: PNSA 1115053. Módulo 684.

Bibliografía

Echaide, I.E.; Valentini, B.; Torioni de Echaide, S. (2002) Neosporosis bovina: análisis seroepidemiológico de un hato lechero mediante IFA y ELISA. In: Mem. XIV Reunión Científica Técnica AAVLD, Villa General Belgrano, Córdoba, Argentina. 13-15/11/2002, Secc. Par-01.
 Álvarez García, G., García-Culebras, A. Gutiérrez-Expósito, D., Navarro-Lozano, V., Pastor-Fernández, I., Ortega-Mora, L.M., (2013). Serological diagnosis of bovine neosporosis: A comparative study of commercially available ELISA tests. Vet. Parasitol. 198:85-95.

I2- USO DE LA TÉCNICA DE POLARIZACIÓN FLUORESCENTE PARA EL DIAGNÓSTICO DE *BRUCELLA* EN *CHAETOPHRACTUS VILLOSUS*

M. S. Kin¹, H. Giménez²; M. Fort²

¹Cátedra de Biología de Cordados, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UNLPam. ²Laboratorio de Salud Animal, INTA, Anguil. La Pampa. Argentina

Introducción

La brucelosis es una enfermedad muy extendida por todo el mundo. El diagnóstico en bovinos se realiza mediante el uso de diferentes técnicas entre ellas el aislamiento del agente etiológico o el diagnóstico por serología. Entre las técnicas más utilizadas para el diagnóstico serológico encontramos la del Antígeno Bufferado en Placa (BPA), Seroaglutinación lenta en tubo (SAT), 2-Mercaptoetanol (2-ME), Fijación del Complemento (FC), Ensayo por Inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) y la técnica de Polarización Fluorescente (FPA), siendo estos dos últimos ensayos similares o superiores a la FC (OIE 2012). Debido a que son más fáciles de realizar técnicamente y más consistentes se prefiere el uso de cualquiera de ellas a la FC. La prueba de aglutinación tamponada en placa, así como la FC, el ELISA o FPA, son pruebas adecuadas tanto para analizar rebaños como animales individuales, siendo todos estos métodos estandarizados y validados para el ganado bovino (OIE 2012). En especies silvestres, como por ejemplo en búfalos (*Bubalus bubalus*), bisonte americano y europeo (*Bison bison*, *Bison bonasus*), yak (*Bos grunniens*), ciervo colorado (*Cervus elaphus*), camellos (*Camelus bactrianus* y *C. dromedarius*), y camélidos sudamericanos, la infección por *Brucella* sp. sigue un curso similar que en el ganado bovino. Para estos animales pueden utilizarse los mismos procedimientos serológicos, pero debe ser validados para la especie de animal estudiada (Gall et al., 2000; 2001). El objetivo de este trabajo fue comprobar si la técnica de Polarización Fluorescente utilizada para la determinación de anticuerpos contra *Brucella* en bovinos puede ser utilizada para el diagnóstico de *Brucella* en *Chaetophractus villosus*.

Materiales y Métodos

De un total de 150 *C. villosus*, capturados en predios rurales de la provincia de La Pampa, se extrajo (sin anestesia), por punción de la *rete mirabile* de la cola (Luaces et al. 2011), una muestra de sangre, que fue centrifugada a 2500 rpm, durante 15 minutos. Luego se procedió a separar el suero, colocarlo en tubos Ependorf y se los almacenó en un freezer a -20° C, hasta su procesamiento. A cada uno de los sueros se les realizó las siguientes pruebas BPA, SAT, 2-ME, FC y FPA. Para comparar las distintas técnicas de brucelosis se utilizó el Test de concordancia de diagnóstico (kappa) y la proporción de conformidad observada.

Resultados.

De un total de 150 muestras de sueros de *C. villosus* se obtuvieron 24 muestras positivas a BPA, las mismas también resultaron positivas por medio de las técnicas SAT, 2-Me, FC y FPA, estableciéndose un límite de corte de 82 mP. A ese nivel de corte la sensibilidad y especificidad del FPA se ubicó en el 100%, al igual que los valores predictivos positivos y negativos.

Sueros	n	FPA Mín	FPA Media	FPA Máx
Negativos	126	3,4	60,9	81,5
Positivos	24	82,6	220,0	277,3

Discusión

El FPA es una técnica que podría ser utilizada para la detección de anticuerpos contra *Brucella* en *C. villosus*, considerándose como valor límite el de 82mP. Trabajos previos realizados en animales infectados experimentalmente con *B. suis*, en los cuales fue posible aislar el microorganismo de distintos órganos, mostraron valores muy superiores a los indicados a partir de las dos semanas de inoculación (datos sin publicar). También fue posible constatar los mismos valores en animales en los cuales *B. suis* biotipo 1 fue aislada de 2 animales infectados naturalmente (Kin et al., 2014). Como conclusión podemos decir que la técnica de FPA mostró excelente correlación con las otras técnicas utilizadas (BPA, SAT, 2-ME, FC), siendo la aplicación del test práctica y rápida aunque requiere para su aplicación de aparatología costosa. Aunque FPA puede ser recomendada para el diagnóstico de rutina de la brucelosis en *Chaetophractus villosus*, la evaluación de la técnica incluyendo mayor número de muestras positivas y negativas debería ser considerada.

Bibliografía

Gall D.; Nielsen K.; Forbes L.; Davis D.; Elzer P.; Olsen S.; Balsevicius S.; Kelly L.; Smith P.; Tan S.; Joly D. 2000. Validation of the fluorescence polarization assay and comparison to other serological tests for detection of serum antibody to *Brucella abortus* in bison. J. Wildl. Dis. 36: 469-476.

Gall D.; Nielsen K.; Forbes L.; Cook W.; Leclair D.; Balsevicius S.; Kelly L.; Smith P.; Mallory M. 2001. Evaluation of the fluorescence polarization assay and comparison to other serological assays for detection of brucellosis in cervids. J. Wildl. Dis. 37: 110-118.

Kin M.S.; Fort M.; T. de Echaide S.; Casanave E. M. 2014. *Brucella suis* in armadillos (*Chaetophractus villosus*) from La Pampa, Argentina. Veterinary Microbiology 170: 442-445. PII: S0378-1135(14)00074-1doi: <http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.vetmic.2014.01.039>

Luaces J.P.; Rossi L.F.; Aldana Marcos H.J.; Merani M.S. 2011. The rete mirabile of the tail, an effective site for sampling sterile blood from armadillos (Dasypodidae, Xenarthra). Ital. J. Zool. 78(1):63-69.

OIE 2012. Manual de la OIE sobre animales terrestres 2012. Capítulo 2.4.3. Brucelosis bovina. Pg. 1-39.

13- ESTANDARIZACIÓN DE LA POTENCIA DE LA TUBERCULINA BOVINA

A. Bernardelli⁽¹⁾, F. Martino⁽²⁾, C. Martino⁽²⁾, J. Rui⁽²⁾, A. Briggiler⁽²⁾, A. Baima,⁽²⁾ P. Costamagna⁽²⁾, M. Signorini⁽³⁾

⁽¹⁾ Ceva Salud Animal S.R.L.-Perú 1655-Ciudad Autónoma de Buenos Aires. (C.P.1141)

⁽²⁾ Estudio Veterinario AVIS-Locatelli 571, Suardi, Provincia de Santa Fe.

⁽³⁾ Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) Estación Experimental Agropecuaria Rafaela del INTA-Ruta 34 Km 227, Rafaela (C.P.2300) Provincia de Santa Fe.

Introducción: De acuerdo con la Farmacopea Europea, la potencia estimada para las tuberculinas bovinas no debe ser inferior a un 66% ni superior a un 150% de la potencia indicada en el rótulo del producto. Según la Serie de Informes Técnicos de la OMS N°384, periódicamente debe realizarse un análisis de la potencia en la especie animal y en las condiciones en las que las tuberculinas se utilizarán en la práctica. Esto implica que las tuberculinas PPD elaboradas con la cepa de *Mycobacterium bovis* AN5, deberán analizarse en la especie bovina tuberculosa infectada en forma natural: Manual de la OIE sobre animales terrestres 2012, Capítulo 2.4.7.-Tuberculosis bovina)

Objetivo: Determinar la potencia de la tuberculina PPD Bovina en el animal de destino: la especie bovina.

Materiales y Métodos: Las tuberculinas en estudio se analizaron contra un estándar de tuberculina bovina, mediante un ensayo de inoculación de cuatro puntos, utilizando dos diluciones, una de las cuales fue cinco veces más concentrada que la otra. En el caso del estándar se inyectaron 0,1 y 0,02 mg de tuberculina PPD, ya que estos volúmenes corresponden a 3.250 y 650 UI (Unidades Internacionales). Con relación a las tuberculinas en análisis, se diluyeron de forma tal que se correspondan a las mismas concentraciones de proteína. El volumen de inyección fue de 0,1 mL y la distancia entre los puntos de inoculación en la zona cervical media fue de 15-20 cm. En un ensayo se comparan tres tuberculinas con la tuberculina estándar en la zona cervical de ocho bovinos tuberculosos, aplicando ocho inoculaciones intradérmicas por animal a ambos lados de la tabla del cuello, utilizando un diseño de cuadrados latinos completo equilibrado. El espesor de la piel, pápula, eritema e induración en cada punto de la inoculación se midió con un calibre graduado en décimas de milímetro, antes de las inoculaciones y 72 hs. posteriores, para la lectura final del ensayo. En forma complementaria, se procedió al análisis estadístico de los resultados mediante un Análisis de la Varianza para un diseño en Cuadrado Latino empleando el programa estadístico InfoStat (Universidad Nacional de Córdoba). **Ensayo a campo:** Los trabajos se realizaron en ganado naturalmente enfermo en el Establecimiento "Omar" ubicado en el Distrito Portaña, Departamento San Justo, provincia de Córdoba, República Argentina. Las tuberculinas en estudio corresponden al laboratorio Ceva Salud Animal S.R.L. cuyas series fueron la N° 258 (vencimiento noviembre de 2014), la N°260 (vencimiento

enero de 2015), la N°261 (vencimiento marzo de 2015) y el estándar Senasa-Dilab, serie N° 77 (vencimiento julio de 2013). Las tuberculinas PPD Bovina y el estándar fueron preparadas en la siguiente forma: 1-Estándar N°77 Senasa-Dilab: Sin diluir, 2-Estándar N° 77 Senasa-Dilab: Dilución 1/53-Serie N°258: Sin diluir, 4-Serie N° 258: Dilución 1/5, 5-Serie N°260: Sin diluir, 6-Serie N°260: Dilución 1/5, 7-Serie N°261: Sin diluir, 8-Serie N°261: Dilución 1/5. Se utilizaron dos diluciones seriadas de 1/5 para cada serie, inoculándose 0,1 mg y 0,02 mg de cada tuberculina en ensayo e idénticas concentraciones con el estándar. Se emplearon ocho animales. Las inoculaciones se realizaron en la tabla del cuello con una distribución de cuadrados latinos de cuatro inyecciones, por cada lado de la cabeza de cada animal. Previa a las inoculaciones fueron medidos el espesor de la piel con un calibre digital graduado en centésimas de milímetro y posteriormente a las 72 hs., se repitieron las mediciones, en este caso mediante la observación y lectura de las reacciones.

Resultados: Los promedios de las lecturas a las pruebas tuberculínicas intradérmicas corresponden a los siguientes cifras en milímetros: Tuberculinas N°1 : 53.19 mm, N°2 : 35.95 mm, Tuberculinas N°3 : 62.2 mm, N°4 : 46.26 mm, Tuberculinas N°5: 83.25 mm, N°6 : 57.18 mm, Tuberculinas N°7: 81.87 mm, N°8 : 63.42 mm. **Análisis de Varianza – Resultados (Univariate Analysis of Variance)** : Análisis estadístico de los valores numéricos en relación a Estándar N°77 Senasa-Dilab, Tuberculina 1: Serie N° 258 Tuberculina 2 : Serie N°260 y Tuberculina 3: Serie N°261, las tres últimas producidas por Ceva Salud Animal S.R.L. **Interpretación** : La Tuberculina PPD estándar presentó los menores espesores, lo cual significa una potencia más baja

Conclusión: Las tres series analizadas de Ceva Salud Animal S.R.L., presentaron mayores valores de potencia, frente a la tuberculina estándar.

Referencias bibliográficas: -Manual de Procedimientos Técnicos-Producción y Control de Tuberculina Bovina-Derivado Proteico Purificado (DPP) *Manual MP 22-Versión 1.0-Año 2000*. A. Bernardelli-Senasa-República Argentina. – Manual of Standards and for Diagnostic Test and Vaccines O.I.E.-Capítulo 2.4.7. Tuberculosis Bovina-páginas 1-15; Año 2014.

14- RESPUESTA VACUNAL A IBR EN TERNEROS CON HIPOCUPROSIS

Lizarraga RM¹, Galarza EM¹, Rosa DE¹, Lasta G¹, Mattioli GA¹

¹Laboratorio de Nutrición Mineral y Fisiología Reproductiva, Fac. Cs. Veterinarias, Univ. Nac. La Plata. mattioli.fcv.unlp@gmail.com

INTRODUCCIÓN

El virus de IBR es uno de los agentes etiológicos de la Enfermedad Respiratoria Bovina (ERB), la cual genera importantes pérdidas en los sistemas de confinamiento. Para prevenirla los animales deben ser vacunados en el período de cría, previo al destete. Los sistemas de cría son pastoriles y extensivos y suelen hacerse sobre zonas con carencia de Cu y/o Zn, como la Cuenca deprimida del Río Salado (CDS), en la Pcia. de Buenos Aires. Estas carencias podrían perjudicar la respuesta inmune y condicionar la resistencia a la ERB. Con el fin de evaluar tal posibilidad se estudió el efecto de la suplementación con Cu y Zn en terneros de cría de la zona.

MATERIALES Y MÉTODOS

En un lote de terneros Aberdeen Angus al pie de la madre, de entre 3 y 7 meses, se generaron dos grupos de 10 animales, homogéneos en peso, sexo y edad y se realizó un ensayo de suplementación con Cu y Zn inyectable (Suplenut®). El Grupo tratado (GT) recibió una dosis parenteral de Cu (0,3 mg/Kg) y de Zn (1 mg/Kg) cada 41 días hasta el destete. Durante el segundo y tercer muestreo todos los animales recibieron una dosis de vacuna con IBR (Biopoligen®Air). El Grupo Control (G C) permaneció sin tratamiento. Previo a cada tratamiento se tomaron muestras de sangre para la medir las concentraciones de Cu y Zn y a excepción del primer muestreo se evaluaron los títulos vacunales a IBR por virus neutralización (Bitsch, 1978). Los títulos fueron convertidos al log₁₀ del mayor título (Parreño et al, 2010). El diseño estadístico fue completamente aleatorio, y se analizó con un modelo mixto con medidas repetidas en el tiempo con el programa estadístico SAS (9.1). La separación de medias se realizó mediante el procedimiento SLICE. Se consideraron diferencias significativas aquellas < a 0,05 y una tendencia < a 0,1 para efectos principales.

RESULTADOS

Los grupos se diferenciaron por los niveles de Cu ($p < 0.01$) pero no por aquellos de Zn ($p: 0.54$) (Figura 1). El tratamiento generó cambios en la respuesta vacunal, con aumento significativo de títulos a ambas dosis (Tabla 1).

Figura 1: Variaciones de los valores promedio ($\pm$ DS) de los niveles de Cu y Zn durante el ensayo.

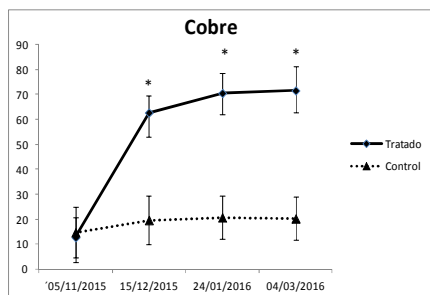


Tabla 1: Valores medios ($\pm$ DS) de los títulos vacunales en el grupo Tratado y Control. Los valores corresponden al log₁₀ del mayor título obtenido.

Grupo	Muestreo **			Diferencia estadística (p)		
	2	3	4	Grupo	Muestreo	Grupo x muestreo
Tratado	0,00 ($\pm 0,00$)	0,84 ($\pm 0,81$)	1,60 ($\pm 0,35$)	0.0262	<.0001	0.1537
Control	0,00 ($\pm 0,00$)	0,36 ($\pm 0,63$)	1,14 ($\pm 0,31$)			

** Muestréos 2, 3 y 4 correspondientes al 15/12/15, 24/01/16 y al 04/03/16 respectivamente.

DISCUSIÓN

Los niveles de cupremia en los terneros del GC fueron indicativos de carencia severa. Estos niveles se asocian con fallas inmunes, que mayoritariamente afectan la respuesta inmune innata (Minatel and Carfagnini, 2000). Existen también informes de fallas inmunes específicas a Brucella abortus, Cándida albicans, etc (Spears, 2000). Si bien los niveles de carencia de Cu encontrados en la zona de estudio condicionan la inmunidad a IBR, sugieren además un compromiso inmune que debería ser considerado. Estudios poblacionales demostraron que en la CDS más del 50% de los terneros presentan hipocuprosis como las halladas en el presente estudio, evidenciando el riesgo sanitario en áreas destinadas a la cría bovina (Ramírez et al, 1998). Finalmente resulta evidente que la aplicación periódica de suplementaciones parenterales puede impedir los efectos informados.

CONCLUSIONES

La carencia de Cu en terneros durante el período de cría condiciona la respuesta vacunal a IBR, evidenciando un compromiso inmune para ese período pero además afecta negativamente la capacidad de defensa contra un agente involucrado en la ERB, la cual es de enorme impacto productivo en los sistemas de confinamiento.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) Bitsch V. The P37/24 modification of the infectious bovine rhinotracheitis virus serum neutralization test. Acta Vet. Scand. 19: 497-505. 1978.
- 2) Minatel L, Carfagnini JC. Copper deficiency and immune response in ruminants. Nutrition Research. 2000; 20(10):1519-29.
- 3) Parreño V, López MV, Rodríguez D, Vena MM, Izuel M, Filippi J, Romera A, Faverin C, Bellinzoni R, Fernandez F, Marangunic L. Development and statistical validation of a guinea pig model for vaccine potency testing against Infectious Bovine Rhinotracheitis (IBR) virus. Vaccine. 2010; 28(13):2539-49.
- 4) Ramírez CE, Mattioli GA, Tittarelli CM, Giuliodori MJ, Yano H. Cattle Hypocuprosis in Argentina Associated with Periodically Flooded Soils. Livestock Production Science. 1998; 55: 47-52.
- 5) Spears JW. Micronutrients and immune function in cattle. Proc Nutr Soc. 2000; 59(4):587-94.

15- DESARROLLO DE METODOLOGÍAS INMUNOLÓGICAS PARA LA MEDICIÓN DE EFICACIA DE VACUNAS ANTI-AFTOSA EN CERDOS

FC Mansilla¹, JM Sala², F Besone³, MV Trotta¹, Fabrisio Alustiza³, R Franco³, J Brunori³, HG Piscitelli³, AV Capozzo^{1,4*}

- 1: Instituto de Virología, CICVyA, INTA CNIA
- 2: Estación Experimental Agropecuaria INTA Mercedes, Corrientes.
- 3: Estación Experimental Agropecuaria INTA Marcos Juárez, Córdoba.
- 4: Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)

* Información de contacto: capozzo.alejandra@inta.gob.ar

Introducción

La fiebre aftosa (FA) es considerada como la enfermedad de mayor importancia económica que afecta a los animales de pezuña hendida como bovinos, cerdos, ovejas y cabras. La FA es enzoótica en extensas regiones del mundo, especialmente en Asia, África y América del Sur, donde se utiliza la vacunación como un método preventivo. Las vacunas comerciales se basan en partículas virales enteras químicamente inactivadas que se formulan con un adyuvante.

El cerdo es la especie doméstica más sensible a la infección con el virus de la fiebre aftosa (VFA) por vía oral, presentando alta morbilidad y mortalidad, y es la especie más relevante desde el punto de vista de la transmisión, ya que puede llegar a excretar hasta 3000 veces más partículas virales por día que una oveja o una vaca.

Dada la importancia del cerdo en la transmisión de la fiebre aftosa y el actual contexto de crecimiento de la porcicultura en nuestro país, resulta importante caracterizar la respuesta inmune inducida en estos animales por la vacuna comercial que se emplea en bovinos. Para esto es imprescindible contar con técnicas serológicas sencillas, validadas y de alto rendimiento para el seguimiento epidemiológico y de la eficacia vacunal en esta especie. Actualmente, solamente se aplica la seroneutralización viral (VNT). Este ensayo es difícil de estandarizar, muy laborioso y requiere de virus vivo, por lo que se realiza bajo estrictas condiciones de bioseguridad. Es por eso que se prefiere contar con técnicas indirectas, con formato ELISA, que permitan usar virus inactivado y ser aplicadas con facilidad en cualquier laboratorio. Actualmente solamente se aplica un ELISA en fase líquida (LPBE) que utiliza dos sueros detectores. Probablemente debido a la falta de técnicas sencillas debidamente validadas, los estudios de eficacia de la vacuna comercial en cerdos son insuficientes y no se cuenta con datos de la cinética de respuesta a la vacunación.

En nuestro laboratorio hemos desarrollado un ELISA de avidez y ELISAs de isotipos de IgG basados en virus purificado e inactivado, y las hemos aplicado a la evaluación indirecta de la protección cruzada en bovinos. Este antígeno se usa en pequeñas cantidades, por lo que puede ser preparado fácilmente para cualquier cepa. Hemos demostrado que las pruebas en realizadas en paralelo, combinando diferentes ensayos, pueden brindar una información más acertada sobre la predicción de protección. Estas pruebas permiten considerar diferentes aspectos de la respuesta humoral, aparte de los niveles de anticuerpos específicos totales o neutralizantes. Por otra parte, el ELISA de avidez es particularmente prometedor, siendo un ensayo de dilución única, es posible evaluar 40 muestra por placa, lo que facilita su aplicación en alto rendimiento.

El objetivo de este trabajo fue poner a punto diversas técnicas serológicas novedosas para ser empleadas en sueros porcinos, con el fin último de evaluar y caracterizar la respuesta inmune humoral y la duración de los anticuerpos séricos inducidos por la inmunización con una vacuna comercial anti-aftosa.

Materiales y Métodos

Quince lechones destetados de 2 meses de edad fueron divididos en dos grupos: 12 de ellos fueron vacunados con una única dosis de vacuna al inicio del experimento y los 3 restantes permanecieron como grupo control, y recibieron una solución que contenía adyuvante en solución fisiológica estéril. Se observó el estado clínico de los animales los 7 días posteriores a la vacunación (dpv) en busca de efectos adversos. Se tomaron

muestras de suero a los 0, 10, 21 y 60 dpv. La presencia de anticuerpos específicos anti-VFA (cepas O1 Campos y A24 Cruzeiro, "O1c" y "A24", respectivamente) se determinó por ELISA de Bloqueo en Fase Líquida (LPBE), tal como se indica en el manual de la OIE. Se empleó un antisuero de conejo para capturar partículas virales inactivadas de VFA (O1c y A24) y un antisuero de cobayo como anticuerpo detector. Los títulos de séricos se expresan como el log₁₀ de la dilución de los sueros con la que se obtiene el 50% de la absorbancia que se observa en el control sin suero. También se titularon los anticuerpos IgG totales anti VFA (O1c y A24) mediante un ELISA indirecto (EI) previamente estandarizado en nuestro laboratorio. Mediante esta plataforma también se evaluó el perfil de isotipos inducido por la vacunación, empleando anticuerpos anti IgG1 e IgG2 y luego un conjugado anti-IgG de ratón detector. La avidez de los anticuerpos se determinó agregando luego de la incubación de los sueros problema, un paso de incubación con una solución concentrada de urea capaz de desestabilizar las uniones más débiles, lo que permite eliminar los anticuerpos de baja avidez. El índice de avidez (IA%) se calculó según los criterios de Perciani y col (2007).

Resultados

Mediante el LPBE y el EI logramos detectar la presencia de anticuerpos específicos anti-VFA en todos los animales vacunados, tanto para la cepa O1c como para A24, a partir de los 10 dpv. La cinética de la producción de anticuerpos es similar a la que se observa en bovinos, aunque en cerdos los niveles de anticuerpos inducidos por la primovacuna se encuentran un orden de magnitud por debajo de los observados en bovinos. Luego de una única dosis, los niveles de anticuerpos siguen incrementándose hacia los 60dpv. El isotipo predominantemente inducido fue IgG2, con valores máximos observados a los 60 dpv; respuesta que se relaciona con un perfil tipo Th1 y que se condice con la respuesta inducida en bovinos. En todos los ensayos, se observa una mayor reactividad para A24 respecto a O1c, aunque las diferencias no son significativas. A los 21 dpv, la avidez de los anticuerpos inducidos contra A24 fue levemente superior respecto a la que se reporta para los bovinos (26,33 vs 20%). No se observan diferencias para O1c entre ambas especies. Resta evaluar la concordancia de estas técnicas con la seroneutralización viral.

Discusión y conclusiones

Hemos logrado estandarizar técnicas serológicas sencillas y de alto rendimiento para evaluar la inmunidad anti-aftosa en cerdos vacunados. Estos ensayos han sido de utilidad para caracterizar la respuesta inmune a la vacuna actual y para permitirán además evaluar vacunas de nueva generación.

Bibliografía

- 1 Perciani y col, 2007. Journal of clinical laboratory analysis, 21:201-206. Improved method to calculate the antibody avidity index.

I6- DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE UN KIT DE ELISA PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA NEOSPOROSIS BOVINA

FC Mansilla¹, I Gual^{2,3}, MS Pérez-Aguirreburualde^{2,4}, NP Cardoso^{1,2}, ME Quintana^{1,2}, AV Capozzo^{1,2*}

1. Instituto de Virología, CICVyA, INTA CNIA
2. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)
3. Estación Experimental Agropecuaria INTA Balcarce.
4. Instituto de Patobiología, CICVyA, INTA CNIA

* Información de contacto: capozzo.alejandra@inta.gob.ar

Introducción

La neosporosis bovina es considerada como una de las principales causas de síndrome reproductivo en bovinos, causando importantes pérdidas económicas en rodeos de leche y de carne¹. En Argentina el diagnóstico de la neosporosis bovina se realiza mediante inmunofluorescencia indirecta (IFI) mientras que el ELISA es la prueba más utilizada a nivel mundial. Dado que no existen kits de ELISA de industria nacional, el alto costo que implica la importación de estos reactivos vuelven imposible la utilización de esta técnica de manera rutinaria en los laboratorios de diagnóstico.

El objetivo de este trabajo fue desarrollar y validar un kit de ELISA de bajo costo y alto rendimiento capaz de detectar la presencia de anticuerpos dirigidos contra proteínas obtenidas de taquizoítos de *Neospora caninum* (sNcAg) en suero bovino.

Materiales y métodos

Para estandarizar y optimizar el protocolo generamos un pool de sueros obtenidos de tres animales positivos (infecciones experimentales) y otro de tres animales negativos, según IFI. Los mismos fueron evaluados empleando distintas concentraciones de antígeno de captura (500, 750 y 1000 ng/pocillo), distintas concentraciones del conjugado anti IgG-bovino:HRP (1:2500, 1:5000 y 1:10000) y dos marcas diferentes de sustrato cromógeno (TMB). Se probaron además distintos tiempos de incubación tanto a temperatura ambiente como a 37°C y diferentes soluciones de bloqueo. Como resultado, en el protocolo final se indica incubar los sueros en una dilución 1:120 durante 30 minutos, utilizar el conjugado diluido 1:5000 e incubar 20 minutos (ambos pasos a temperatura ambiente). Una vez adicionado el sustrato (TMB), se incuba la placa 10 minutos a temperatura ambiente en oscuridad. La reacción se frena agregando una solución de parada a cada pocillo, para luego leer a 450nm. Los resultados se calculan normalizando los valores de OD respecto al control positivo (S/P%).

Se determinó la precisión de la técnica ensayando la repetitividad entre series dentro de una placa y entre placas por un mismo operador. Para este ensayo se seleccionó una muestra positiva débil (título IFI: 400), una positiva media (título IFI: 800), una positiva fuerte (título IFI: 1600) y una negativa. Cada una se analizó por triplicado en 5 series independientes en una misma placa.

Para calcular la sensibilidad y especificidad diagnóstica (SenD y EspD, respectivamente) se analizaron 307 muestras positivas y 327 muestras negativas, de título conocido por IFI. Con los valores de S/P% se construyó una curva ROC que permitió establecer las diluciones óptimas y los puntos de corte. También

se analizó la concordancia con la técnica de IFI (considerada como *standard de oro*).

Resultados

El protocolo final es muy sencillo. El suero se prepara en una única dilución, las incubaciones son cortas y se realizan a temperatura ambiente. Asimismo, el análisis de los datos es muy simple. La validación se realizó siguiendo los lineamientos del manual OIE para animales terrestres (Capítulo 1.1.4).

Dentro de cada serie el coeficiente de variación para cada muestra fue menor al 10% para las 4 muestras analizadas. Lo mismo se observó entre las 5 series.

Para evaluar la estabilidad de las placas envasadas se realizó una prueba de estabilidad acelerada. Las placas fueron sensibilizadas, bloqueadas, secadas y envasadas al vacío. Una de ellas se almacenó a 37°C y otra a 4°C. Luego de una semana, 20 muestras seleccionadas al azar (7 positivas y 13 negativas) se evaluaron en ambas placas. Se observa una reducción promedio de la reactividad del 26% entre los valores obtenidos con la placa conservada a 4 vs 37°C, lo que sugiere que las placas se mantendrían estables por un período de hasta 12 meses.

Los sueros son diluidos 1:120. Los animales con un valor de S/P% superior al 40% son considerados positivos, mientras que los que presentan un valor menor al 30% son negativos. Los que presentan un S/P% entre 30 y 40% son considerados dudosos, y se vuelven a analizar en una dilución 1:40, esta vez con un punto de corte del 30%. En estas condiciones la sensibilidad diagnóstica es de 0.925 y la especificidad del 0.968.

La concordancia con la técnica de IFI (*standard de oro*) fue de 0.91, con un valor coeficiente κ de Cohen igual a 0.82, indicando una concordancia casi perfecta. No se observa correlación lineal entre ambas técnicas. También demostramos que mediante esta técnica es posible analizar muestras agrupadas, detectando una muestra positiva fuerte o media en hasta 100 muestras negativas. Para esto las muestras se diluyen 1:40. En este caso, la EspD y SenD alcanzan el 90%.

Discusión y conclusiones

El ELISA desarrollado cumple las especificaciones requeridas para utilizarse a nivel comercial. Permitirá realizar relevamientos y determinaciones individuales a bajo costo y en tiempos cortos, mejorando el diagnóstico local de la neosporosis bovina.

Bibliografía

Dubey JP, Dubey J. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. Korean J Parasitol. 2003;41(1):1-16.

17- INMUNOGENICIDAD DE DISTINTAS VACUNAS INACTIVADAS DE SALMONELLA AVIARES DE USO EN LA ARGENTINA

M Bombicino¹, C Leiva², A Kaloghlian¹, MV Terrera¹ y P Chacana²

¹Depto. de Aves, Coord. de Virología, DILAB, SENASA; ²Área de Bacteriología, Instituto de Patobiología, CICVyA, INTA Castelar. mbombicino@senasa.gov.ar

Introducción

La salmonelosis es una de las enfermedades infecciosas más difundidas a nivel mundial, que afecta tanto a seres humanos como a diferentes especies animales. La importancia de esta enfermedad se ve reflejada a nivel de la sanidad avícola, en la seguridad alimentaria con impacto en la Salud Pública y como consecuencia, en el comercio internacional de productos y subproductos avícolas. Debido a la relevancia de estos patógenos en la Salud Pública y en la sanidad aviar, el SENASA instauró en el año 2002 mediante la Resolución N° 882/2002 el "Programa de Control de las Mycoplasmosis y Salmonelosis de las aves y prevención y vigilancia de enfermedades exóticas y de alto riesgo en plantales de reproducción". La vacunación es una de las herramientas fundamentales para el control del patógeno y su efectividad requiere de controles de calidad para medir la inmunogenicidad de las mismas. En este contexto, se ha establecido un procedimiento para determinar la inmunogenicidad de las vacunas inactivadas de *Salmonella* de uso en la Argentina mediante la técnica de microaglutinación en placa, una de las recomendadas por la OIE (2016). El objetivo de este trabajo fue determinar la inmunogenicidad de vacunas de *Salmonella* aviares mediante la determinación de títulos séricos específicos.

Materiales y Métodos

Para la evaluación de la inmunogenicidad se estableció un procedimiento que incluye dos vacunaciones con la vacuna a analizar.

Aves. Se utilizaron aves ponedoras de la raza Leghorn, tanto SPF como convencionales. Las mismas recibieron agua y alimento *ad libitum* durante todo el ensayo, según los requerimientos de la línea utilizada.

Vacunas. Se analizaron tres vacunas inactivadas comerciales del tipo bacterina de uso en la Argentina que incluían distintas serovariedades de *Salmonella*. Todas ellas incluían *S. Enteritidis* en su formulación.

Grupos experimentales. Las aves fueron divididas en dos grupos: **Grupo Vacunado:** 25 aves que recibieron la primera dosis de vacuna durante la semana 4 de vida y la segunda dosis durante la semana 8 de vida y **Grupo Control:** 10 aves que no fueron inmunizadas durante el ensayo.

Toma de muestras. Se tomaron muestras de sangre individuales de todas las aves en el momento de la primera vacunación (suero pre-inmune) y a las 4 semanas luego de la primera inmunización y segunda inmunización (sueros post 1era y post 2da, respectivamente). La sangre fue extraída a partir de la vena alar y los sueros conservados a -20°C hasta su utilización.

Análisis serológico. El título de anticuerpos presentes en las muestras de suero fue determinado mediante microaglutinación en placas de 96 pocillos con fondo en "U". Como antígeno, se utilizaron suspensiones de *Salmonella* inactivadas con formalina, cuya concentración fue ajustada al tubo 1 de la escala

nefelométrica de Mc. Farland (correspondiente a alrededor de 1×10^8 bacterias / mL). En caso de que la vacuna analizada incluyera más de una serovariedad, se determinó el título para cada una de los componentes. Se realizaron diluciones iniciales 1:10 de los sueros y posteriormente diluciones seriadas binarias (entre 1:10 y 1:5120) que fueron enfrentadas con la suspensión del antígeno correspondiente. Asimismo, todas las placas incluyeron controles negativos (antígeno enfrentado a PBS) para verificar la formación del botón característico de la reacción negativa. Las placas fueron incubadas a 37°C durante 18 hs y posteriormente se llevó a cabo la lectura de las mismas. El título de microaglutinación fue determinado como la mayor dilución de los sueros que presentó una reacción positiva en la prueba (formación de un escudo sobre el fondo del pocillo).

Resultados

Se observaron diferencias respecto a la seroconversión de las aves vacunadas con las distintas vacunas analizadas. En todos los casos, las aves de los grupos no vacunados en cada ensayo tuvieron títulos menores a 20. En la Tabla 1 se muestra la media geométrica de los títulos serológicos contra *S. Enteritidis* determinados en cada una de las muestras analizadas de las aves vacunadas.

	Media geométrica del título de microaglutinación (SD)		
	Pre-inmune	Post-1era inmunización	Post-2da inmunización
Vacuna 1	<20	999,3 (201,2)	1698 (214,4)
Vacuna 2	<20	286,8 (155)	815,7 (150)
Vacuna 3	<20	150,2 (60)	502,1 (164,2)

Tabla 1. Media geométrica de los títulos de microaglutinación contra *Salmonella Enteritidis* de aves inmunizadas con las diferentes vacunas analizadas.

Discusión

Se ha observado gran diversidad entre las distintas vacunas analizadas respecto a su capacidad inmunogénica en el modelo de análisis utilizado. Estas diferencias seguramente se deben a las características y concentración de los antígenos utilizados en su formulación así como también a la diversidad de adyuvantes incluidos en las mismas. A pesar de que en el caso de *Salmonella* no existe una correlación directa entre niveles de anticuerpos y eficacia para proteger contra la infección del patógeno, la posibilidad de contar con un sistema de control de las mismas en cuanto a su inmunogenicidad es fundamental para asegurar la calidad de los productos biológicos utilizados en la avicultura de nuestro país.

Bibliografía

OIE. Salmonellosis. Manual de Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los Animales Terrestres (Manual Terrestre versión online). 2016. Capítulo 2.9.8: 1-18.

18- APLICACIÓN DE UN ELISA NACIONAL PARA DIFERENCIAR INFECCIONES AGUDAS DE CRONICAS DE NEOSPORA CANINUM EN DIFERENTES SISTEMAS PRODUCTIVOS

R. Pereyra¹, R. Neumann¹, F. Mansilla², V. H. Suarez¹, A. Capozzo²

¹ INTA, AISA IIACS con sede en EEA Salta,

² Instituto de Virología INTA Castelar. Buenos Aires

INTRODUCCION

La neosporosis bovina, producida por el protozoo *Neospora caninum* del phylum *Apicomplexa* tiene como hospedador definitivo a los cánidos siendo hospedadores intermediarios los bovinos, ovinos, caprinos, búfalos, ciervos y equinos, entre otros. Se han detectado abortos en vacas sero-positivas a *Neospora caninum*, como así también anticuerpos (Ac) y lesiones histopatológicas en fetos bovinos (Campero et al., 1998). Se han realizado estudios serológicos en diferentes regiones de nuestro país que revelaron una alta prevalencia de esta enfermedad (Moore et al., 2002). En Salta, un relevamiento regional en tambos del Valle de Lerma arrojó una seroprevalencia promedio de *N. caninum* en vacas de 38,7% (Neumann, com. personal). El objetivo de este trabajo fue, por un lado evaluar la presencia de animales con serología positiva contra *N. caninum* en diferentes sistemas de producción bovina de la provincia de Salta por medio de un ELISA nacional y diferenciar entre infecciones agudas o crónicas.

MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se llevó a cabo en 4 rodeos, 2 tambos ubicados en el departamento de Rosario de Lerma (uno con sistema *free stall* (Tambo 1) y otro con cría intensiva con suplementación (Tambo 2); y en dos emprendimientos de cría uno en Salta Capital (Cría 1) y el otro en La Quebrada del Toro (Cría 2), con sistemas pastoriles extensivos familiares. La Tabla 1 muestra el número de animales evaluados en cada rodeo.

Se tomaron muestras de sangre por venopunción coxígea, luego se centrifugaron y se extrajo el suero. Se realizó serología contra *N. caninum* utilizando un kit nacional, desarrollado por INTA y CONICET, que mide anticuerpos contra un extracto de proteínas del parásito. Los sueros se procesan en una única dilución. El corte se establece como un porcentaje relativo a un control positivo estandarizado. Para evaluar la avidez de los Ac se agrega un paso de lavado con urea. Se calcula el índice de avidez (IA%) como una relación entre dos valores de densidad óptica, con y sin el tratamiento con el agente caotrópico. Se consideran Ac de alta avidez cuando el IA es mayor a 65%.

RESULTADOS

Se evaluaron los sueros individualmente por ELISA y se determinó positividad según el punto de corte del ensayo. Los sueros positivos fueron luego evaluados para obtener el índice de avidez. Se establecieron las infecciones recientes y crónicas según los valores de IA. Los resultados obtenidos se compendian en la Tabla 1. Todos los sistemas de producción evaluados presentaron animales seropositivos a *N. caninum*, con un valor

máximo de 54%. El establecimiento de cría "cría 1" presentó valores muy bajos de animales seropositivos, falta determinar el IA de estos sueros.

Tabla 1. Resultados del análisis serológico en los distintos establecimientos.

ND: No determinado

	Serología positiva (%)	Infecciones recientes (% de positivos)	N
Tambo 1	36	22	101
Tambo 2	54	95	37
Cría 1	45	94	68
Cría 2	5,9	ND	63

DISCUSIÓN

Los resultados encontrados en este estudio determinaron un porcentaje mayor de bovinos con serología positiva a *N. caninum* en sistemas lecheros que en los de cría, lo cual coincide con un tipo de explotación más intensiva y donde las posibilidades de contagio de *N. caninum* sería mayor. Sin embargo el rodeo de cría (Salta capital) presenta una prevalencia alta y un alto porcentaje de infecciones recientes (94% de los animales positivos); probablemente esto pueda explicarse debido a su cercanía con la ciudad, donde la presencia de perros es elevada.

En el tambo 1 se observó un menor porcentaje de positivos comparado con el tambo 2, que mostraron IA más altos comparado con el otro tambo, lo que indicaría un mayor porcentaje de infecciones crónicas.

Este ELISA nacional que permite diferenciar entre infecciones crónicas y agudas constituye una herramienta muy importante para los estudios epidemiológicos.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Carolina Gorchs de Laboratorio San Isidro por proveer los sueros de los tambos y al personal que colaboró para que este trabajo pueda llevarse a cabo.

BIBLIOGRAFÍA

Moore y col, 2009. Risk factors associated with *Neospora caninum* infections in cattle in Argentina. *Veterinary Parasitology*, 161:122-125. ISSN-0304-4017.

Campero y col. *Neospora caninum*-associated abortion in a dairy herd in Argentina *Vet Rec*, 143 (1998), pp. 228–229

19- EVALUACIÓN DE LA INMUNORREACTIVIDAD Y CONSERVACION DE CANDIDATOS VACUNALES DE *CRYPTOSPORIDIUM PARVUM*

M.L. Tomazic^{1,2}, J. Lombardelli^{3,2}, T. Poklepovich^{1,2}, A.E. Rodríguez¹, R. Galarza⁴, J. Toledo^{1,5}, C. Garro¹, K. Tiranti³, M. Florin-Christensen.^{1,2,5} y L. Schnittger.^{1,2,5}

¹Instituto de Patobiología, CICVyA, INTA, 1686 Hurlingham, Argentina; ²CONICET, Buenos Aires, Argentina, ³Departamento de Patología Animal, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto, ⁴EEA-Rafaela, INTA, Rafaela, Prov. de Santa Fe, ⁵Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad de Morón. Argentina. E-mail: tomazic.mariela@inta.gob.ar

Introducción. La criptosporidiosis bovina es causada por el protozoo apicomplexa *Cryptosporidium* spp. y es una enfermedad desatendida a nivel global y local. Es una zoonosis y antroponosis que afecta a inmunosuprimidos y a niños menores de 3 años. A nivel local, se considera a los terneros como mayor reservorio para el parásito y por ende para su diseminación, ya que es el ooquiste, eliminado por las heces, el causante de las infecciones. Hasta hoy, estudios moleculares han identificado exclusivamente a la especie *C. parvum* en terneros de nuestro país, la cual es considerada la especie zoonótica mas importante [1]. En la actualidad solo existen medidas paliativas, no hay drogas ni vacunas que curen ni controlen la enfermedad [2].

El desarrollo de una vacuna efectiva traería aparejados múltiples beneficios, no solo porque mejoraría la salud y el bienestar de los animales sino que permitiría controlar la zoonosis y los brotes causados por contaminación de aguas y alimentos con ooquistes, mejorando así la salud pública. La búsqueda de antígenos capaces de generar anticuerpos protectivos es esencial para el desarrollo de formulaciones vacunales. Los protozoos parásitos tienen abundantes proteínas asociadas a la superficie celular a través de un complejo glicolipídico denominado glicosilfosfatidilinositol (GPI), las cuales están implicadas en el proceso de invasión [3]. A partir de un estudio previo del proteoma de *C. parvum* con herramientas bioinformáticas, se identificó una lista de potenciales candidatos vacunales predichos de ser anclados por GPI [4]. El objetivo de este trabajo se centra en el estudio de la conservación de tres de estos antígenos y su capacidad de ser reconocidos por la respuesta humoral de terneros infectados naturalmente con *C. parvum*.

Materiales y Métodos. Se usaron las siguientes herramientas bioinformáticas: (i) base de datos CryptoDB (expresión en los estadios infectivos), (ii) Blast reverse y OrthoMCL (búsqueda de ortólogos), (iii) Interpro y Pfam (identificación de dominios funcionales) y (iv) BCPRED y BEIPRED, Kolaskar (predicción de epitopes B). El análisis de polimorfismo se realizó por amplificación por PCR seguido de secuenciación a partir de ADNg de 5 aislamientos de terneros naturalmente infectados. Los mismos provienen de tambos ubicados en las localidades de Santa Fe (subgenotipo: *IlaA20G1R1*), Córdoba (subgenotipo: *IlaA21G1R1*, *IlaA23G1R1*) y Buenos Aires (subgenotipos: *IlaA17G1R1*). Se expresó el marco abierto de lectura de los genes: *cph1*, *cpgp60* y *cpsubl*. Se amplificaron a partir de aislamientos del subgenotipo *IlaA23G1R1* de *C. parvum* encontrado hasta el presente exclusivamente en Argentina y fueron clonados en el vector pRSET con un tag de histidina. Se utilizó una cepa expresión de *E. coli* (Rosetta 2DE3 pLacI). Las proteínas recombinantes fueron purificadas por cromatografía de afinidad a iones metálicos (IMAC) y fueron utilizadas para ensayos de Western-Blot (WB).

Se tomó sangre de 10 terneros a distintas edades y se obtuvieron 23 sueros en tres etapas: 1- 10 sueros de 1 a 11 días; 2- 10 sueros de 12 a 28 días; y 3- 3 sueros de 38 días y 52 días. Todos los terneros fueron previamente diagnosticados por microscopía óptica y posteriormente, de 3 de ellos, se identificó por PCR-RFLP a *C. parvum* como la

especie infectante. Se determinó por refractometría si había falla de la transferencia pasiva de la inmunidad (FTPI).

Resultados. Los antígenos seleccionados que fueron expresados en *E. coli* y se denominaron: (i) Cph1r, (ii) Cpsubl y (iii) Cpgp60r, los cuales no presentan ortólogos en otros organismos, presentan epitopes B y se expresan en estadios infectivos. El análisis de polimorfismo para el gen *cph1* mostró 100% de identidad entre los aislamientos, y en consecuencia los epitopes B predichos también son conservados. *cpgp60* es un gen polimórfico, contiene una región hipervariable que es utilizada para subtipificación. Los epitopes B de esta proteína mostraron identidad entre los 5 aislamientos geográficos, a excepción de uno que se halla en la región hipervariable.

El análisis de WB mostró que los 3 antígenos en estudio son inmunodominantes, ya que fueron reconocidos por los sueros de los 10 terneros en estudio. Cpgp60r reaccionó con 6 sueros en la etapa 1 (1-11 días), con 9 sueros de la etapa 2 (12-28 días) y con los 3 sueros en la etapa 3. Cph1r fue reconocido por 5 sueros en la etapa 1, por 6 sueros en la etapa 2 y por los 3 sueros de la etapa 3. Cpsubl mostró reactividad con los 23 sueros en las tres etapas. Es de interés mencionar que no hubo diferencias en la inmunorreactividad con los 3 antígenos entre terneros con y sin FTPI.

Discusión. Los resultados de inmunorreactividad obtenidos para Cpgp60r, sugieren que una prolongada infección aumenta considerablemente el número de individuos con seroconversión (negativos en la etapa 1 y positivos en las posteriores). Para Cph1r, se puede asumir que con un prolongado tiempo de infección no aumenta significativamente la seroconversión, dado que son positivos los sueros en todas las etapas a excepción de uno. Los resultados obtenidos para Cpsubl sugieren que es un antígeno altamente inmunodominante. No hubo diferencias entre terneros con y sin FTPI, lo cual podría indicar que no hay anticuerpos específicos y/o no son transferidos en el calostro. De todas formas, se requiere investigar esta hipótesis en más profundidad. En conjunto, estos resultados indican que las proteínas nativas generan una respuesta humoral en terneros infectados naturalmente. Esto, sumado a la ausencia de polimorfismos y conservación de epitopes B, sugieren que estas proteínas son atractivos candidatos vacunales y potenciales blancos terapéuticos.

Bibliografía

[1] M. L. Tomazic, J. Maidana, M. Dominguez, E. L. Uriarte, R. Galarza, C. Garro, M. Florin-Christensen, and L. Schnittger, "Molecular characterization of Cryptosporidium isolates from calves in Argentina," *Vet. Parasitol.*, vol. 198, no. 3-4, pp. 382-386, 2013. [2] S. M. Cacciò and R. M. Chalmers, "Human cryptosporidiosis in Europe," *Clin. Microbiol. Infect.*, 2016. [3] A. E. Rodríguez, M. Florin-Christensen, D. A. Flores, I. Echaide, C. E. Suarez, and L. Schnittger, "The glycosylphosphatidylinositol-anchored protein repertoire of Babesia bovis and its significance for erythrocyte invasion," *Ticks Tick. Borne. Dis.*, vol. 5, no. 3, pp. 343-348, 2014. [4] M. L. Tomazic, A. E. Rodríguez, M. Florin-Christensen and L. Schnittger, "Bioinformatic identification of vaccine and diagnostic candidates of Cryptosporidium parvum," *CONGRESS OF PARASITOLOGY*. México 2014.

Financiamiento: FonCyt: PICT-2013-1708; INTA: PNBIO-1131034 y PNSA-1115053; Fundación Universidad de Morón PID8-2015. PICT 0695-2012

110- DIAGNÓSTICO DE BRUCELOSIS PORCINA: ANÁLISIS DE CONCORDANCIA ENTRE PRUEBAS SEROLÓGICAS PARA ESTABLECIMIENTOS ENDÉMICOS Y LIBRES

A.R. Bence^{1,6}; S.E. Gutiérrez^{2,5}; P. Soto³; H. M. Echevarría³; C.S. Cacciato^{3,6}; M.A. Rivero^{4,6}; S. M. Estein^{1,5}

¹Laboratorio de Inmunología ²Laboratorio de Virología ³Laboratorio de Microbiología Clínica y Experimental. ⁴Área Epidemiología Básica. Facultad de Ciencia Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Pcia. de Buenos Aires. Pinto 399. Tandil (7000).

⁵CONICET. ⁶CIC.

arben@vet.unicen.edu.ar

INTRODUCCIÓN

La brucelosis porcina es una enfermedad infectocontagiosa, zoonótica y de curso crónico ocasionada por *Brucella suis*. La enfermedad se caracteriza por provocar aborto, infertilidad y patologías osteoarticulares, además de innumerables pérdidas económicas en la industria porcina. El control de la brucelosis porcina se apoya en la detección y eliminación de los animales infectados. Dado que el diagnóstico bacteriológico es laborioso y la liberación de la bacteria en fluidos y exudados es poco intensa y discontinua, lo habitual es realizar el diagnóstico serológico de la piara. Las pruebas utilizadas para el diagnóstico se consideran poco confiables para análisis a nivel individual. Si bien, estas pruebas son sensibles y aplicables a un gran número de muestras, poseen baja especificidad y no están debidamente estandarizadas para la especie porcina.

El objetivo este trabajo fue evaluar la concordancia entre las pruebas de aglutinación con antígeno tamponado en placa BPA y Rosa de Bengala (RB) y la Polarización de la Fluorescencia (FPA) para el diagnóstico de la brucelosis porcina en tres establecimientos de la provincia de Buenos Aires, con diferente estatus sanitario respecto de la enfermedad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se muestrearon 197 animales de tres establecimientos y de distintas categorías. Los establecimientos I (n=93) y II (n=14) presentaban animales con manifestaciones clínicas y serología positiva a brucelosis porcina (brote), mientras que el establecimiento III (n=90) era un establecimiento libre de la enfermedad.

Se tomaron muestras de sangre por punción yugular para la obtención de suero y sangre entera con heparina sódica para hemocultivo. En el establecimiento I se recolectó material de aborto: hígado, pulmón, bazo y líquido estomacal fetal. Se hicieron improntas de los órganos muestreados para el análisis por inmunofluorescencia directa (IFD) y coloración de Gram. Las muestras de sangre entera fueron sembradas por duplicado en placas de medio Skirrow (selectivo) y en medio bifásico (botellas con medio sólido selectivo y caldo *Brucella*). Se incubaron a 37°C en aerobiosis. Los cultivos fueron observados durante 10 días. Las colonias aisladas se identificaron mediante pruebas bioquímicas (Alton y col., 1988).

La detección de anticuerpos específicos se realizó mediante las pruebas de BPA, RB y FPA. Los antígenos y la gammaglobulina anti-*Brucella* conjugada a isotiocianato de fluoresceína fueron provistos por BIOTANDIL (Laboratorio Biológico de Tandil SRL). La prueba de FPA se realizó con el polarímetro SENTRY 100 en BIOTANDIL. La realización e interpretación de las pruebas serológicas se realizó de acuerdo a la normativa oficial (Nicola, 2009).

Para determinar la concordancia entre las pruebas se evaluó el índice Kappa y se calificó del siguiente modo:

- excelente: índice Kappa mayor que 0,75.
- buena a regular: índice Kappa entre 0,40 y 0,75.
- pobre: índice Kappa menor que 0,40.

RESULTADOS

En el establecimiento I se aisló *Brucella suis* biotipo 1 por hemocultivo y de las muestras de feto. Las improntas de los órganos dieron resultado IFD positivo. No se aisló *B. suis* por hemocultivo en los establecimientos II y III. En la **Tabla 1** se muestran los resultados positivos en las pruebas de aglutinación y FPA por establecimiento.

Tabla 1. Resultados positivos en la prueba de aglutinación y/o FPA

Establecimiento	Agglutination	FPA
I	18,18% (10/55)	61,81% (34/55)
II	71% (10/14)	100% (14/14)
III	0% (0/87)	0% (0/87)

En la **Tabla 2** se presenta la concordancia general entre las pruebas serológicas analizadas, es excelente para BPA-RB, regular a buena para BPA –FPA y RB-FPA.

Tabla 2. Concordancia general entre las pruebas serológicas

Pruebas serológicas		Kappa (IC95%)
BPA	RB	0,85 (0,72-0,98)
BPA	FPA	0,55 (0,41-0,69)
RB	FPA	0,49 (0,33-0,65)

La concordancia entre las pruebas de aglutinación es similar en los establecimientos endémicos, mientras que no se observa concordancia entre cualquiera de las pruebas de aglutinación y el FPA en esta situación epidemiológica (**Tabla 3**).

Tabla 3. Concordancia de las pruebas serológicas en los establecimientos endémicos

Establecimiento	Pruebas serológicas		Kappa (IC95%)
	BPA	RB	0,75 (0,52-0,98)
I	BPA	FPA	0,39 (0,22-0,57)
	RB	FPA	0,26 (0,1-0,42)
	BPA	RB	0,84 (0,53-1)
II	BPA	FPA	0 (0-0)
	RB	FPA	0 (0-0)

Todos los cerdos del establecimiento III resultaron negativos a las tres pruebas serológicas.

Cabe destacar que aproximadamente el 17,26% (34/197) de los sueros analizados mostraron reacciones “atípicas” en la lectura de la prueba BPA, lo que generó confusión en la lectura.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

La prueba de FPA tiene la ventaja de ser una prueba objetiva, rápida y de fácil ejecución, requiere volúmenes menores de suero y no es afectada por la hemólisis.

El empleo de la prueba de FPA en establecimientos endémicos permitió detectar animales que se encontraban en la etapa aguda de la infección y que presentaban bajos niveles de anticuerpos. Por este motivo, la mayoría de los animales con resultado positivo a esta prueba fueron negativos en la prueba de aglutinación en los dos establecimientos endémicos.

De acuerdo a nuestros resultados, el empleo de las técnicas de BPA o RB no serían útiles como pruebas tamiz en porcinos debido al elevado porcentaje de animales falsos negativos. Asimismo, surge la necesidad de evaluar los valores de cortes propuestos para el FPA en esta especie.

En trabajos futuros compararemos la *performance* de las distintas pruebas convencionales con nuevas técnicas diagnósticas para evaluar sensibilidad y especificidad, teniendo en cuenta, la simplicidad operativa, seguridad y costos.

BIBLIOGRAFÍA

- Alton y col., 1988. Techniques for the brucellosis laboratory.
Nicola, AM, Elena, S. 2009. Manual de diagnóstico serológico de la brucelosis bovina. SENASA. Argentina.

111- RESULTADOS PRELIMINARES DE UN ELISA PARA ANAPLASMOSIS QUE PERMITE DIFERENCIAR ANIMALES VACUNADOS DE INFECTADOS.

M. Sari¹, C.S. Thompson¹, M. B. Novoa^{1,2}, S. T de Echaide¹ y M. E. Primo^{1,2}.

¹INTA EEA-Rafaela CC 22, 2300, Rafaela; ²CONICET

primo.maria@inta.gob.ar

Introducción

La anaplasmosis bovina es una enfermedad infecciosa causada por *Anaplasma marginale*, bacteria intracelular que se multiplica en los eritrocitos. Se encuentra ampliamente distribuida en el mundo y en Argentina el área de dispersión abarca al norte del paralelo 33°S, ocurriendo brotes esporádicos al sur de esa latitud. En áreas endémicas los rodeos se encuentran en estabilidad enzoótica cuando más del 75% de los bovinos se infecta con *A. marginale* antes de los 9 meses de edad promedio. Cuando esto no ocurre hay riesgo de ocurrencia de brotes de anaplasmosis aguda. El estatus epidemiológico se evalúa a través de la detección de anticuerpos específicos y permite establecer la necesidad de vacunar a los terneros susceptibles. La vacunación con la cepa de *A. centrale*, menos patógena, produce inmunidad cruzada parcial. El ELISA de competición (cELISA; VMRD Inc., Pullman, WA)[1] es la técnica serológica recomendada actualmente por la OIE para la determinación de anticuerpos. Este ELISA no distingue los anticuerpos generados por la cepa vacunal de aquellos generados por *A. marginale*.

El objetivo de este trabajo fue desarrollar un ELISA que distinga bovinos portadores de *A. marginale* de aquellos vacunados con *A. centrale*. Para ello se desarrolló un ELISA sándwich con desplazamiento (sELISAd) basado en los antígenos recombinantes MSP5 de *A. marginale* (MSP5m) y de *A. centrale* (MSP5c). A pesar de presentar un 91,5% de identidad de secuencia, las proteínas MSP5m y MSP5c poseen algunos epitopes B específicos de cada especie. El sELISAd permite evaluar la presencia de anticuerpos dirigidos hacia los epitopes B específicos. La adición de MSP5m no marcado en exceso bloquea el revelado de todos los anticuerpos que reconocen epitopes de *A. marginale* (específicos y compartidos con *A. centrale*), pudiendo ser revelados sólo los Ac que reconocen epitopes específicos de *A. centrale*. De igual forma, el desplazamiento con MSP5c permite detectar los anticuerpos específicos para *A. marginale*.

Materiales y Métodos

sELISAd. Todas las incubaciones se realizaron a 25°C durante 1 hora. Los antígenos recombinantes MSP5m y MSP5c se inmovilizaron sobre placas polysorp de 96 pocillos. Las placas se bloquearon con PBS/10 % de leche, se lavaron 3 veces con PBS/0.05 % Tween 20 (PBST) y se agregó a cada pocillo 100 µl de las muestras de suero por duplicado. Los pocillos se lavaron 5 veces con PBST y se incubaron con las proteínas MSP5m y MSP5c biotiniladas. A uno de los duplicados se le agregó 1 µg/pocillo de MSP5m sin marcar (Muestra Ac) y al otro 1 µg/pocillo de MSP5c sin marcar (Muestra Am). Se repitieron los lavados y se agregó estreptavidina-peroxidasa 1/500. La reacción se reveló con ABTS/H₂O₂ y la DO_{405nm} de cada ensayo se midió a los 60 minutos.

Se realizó un ensayo con condiciones controladas usando 34 sueros de bovinos positivos por nPCR[2] para *A. centrale* y negativos para *A. marginale* y 31 sueros negativos para *A. centrale* y positivos para *A. marginale* para fijar el punto de corte. El sELISAd fue evaluado en condiciones naturales con 106 sueros de bovinos con serología positiva para *Anaplasma* spp., 53 de terneros post vacunación provenientes del sur de la provincia de Buenos Aires y 53 de terneros provenientes de una zona endémica de la provincia de Salta, sin historial de vacunación. Para cada muestra (m) los resultados fueron expresados como una razón (R) según la siguiente fórmula

$$R_m = \frac{DO_{405nm} \text{ Muestra Ac}}{DO_{405nm} \text{ Muestra Am}}$$

El rendimiento del sELISAd se optimizó mediante el análisis de las curvas ROC.

Resultados

El punto de corte para diferenciar bovinos vacunados de infectados fue de 0,68 con sensibilidad y especificidad del 100%. Los bovinos con valores $\leq 0,68$ fueron considerados bovinos vacunados y aquellos con valores $>0,68$ bovinos infectados (portadores de *A. marginale*). Cuando se analizaron sueros de terneros en condiciones naturales, la sensibilidad y especificidad del ensayo fueron del 98%. El promedio ($\bar{x}$) y desvío estándar (σ) de los sueros del ensayo realizado en condiciones naturales fueron similares a los del ensayo controlado (Tabla 1).

Tabla 1. Estadística del sELISA con desplazamiento

	Condiciones controladas (nPCR)		Condiciones naturales	
	Ac +/Am -	Ac -/Am +	Vacunados	Infectados
N	34	31	53	53
$\bar{x}$ (σ)	0,32 (0,11)	4,49 (2,80)	0,33 (0,13)	4,25 (2,68)

Los valores obtenidos para cada bovino se grafican en la Figura 1.

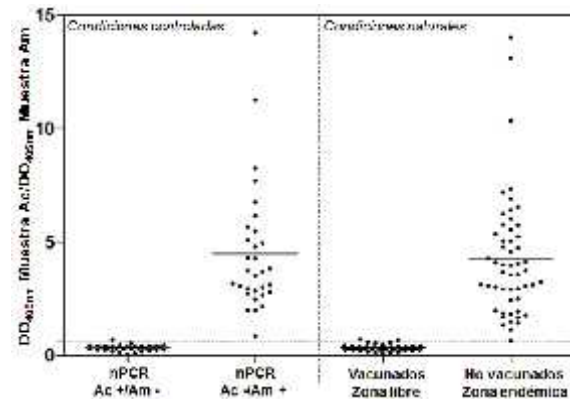


Figura 1. sELISAd. A la izquierda se grafican los resultados del ensayo realizado en condiciones controladas y a la derecha los resultados del ensayo realizado en condiciones naturales. La línea de puntos horizontal indica el punto de corte.

Discusión

El sELISAd desarrollado permitió diferenciar con alta sensibilidad y especificidad bovinos infectados de vacunados. A diferencia de la nPCR, técnica utilizada actualmente para este fin, el ELISA permite procesar un alto número de muestras a un bajo costo y no requiere equipamiento especial, por lo que un laboratorio de mediana complejidad podría realizarlo.

Estos resultados preliminares son prometedores, pero un mayor número de muestras deberían ser analizadas para la consolidación de los mismos.

Referencias

- [1] S. Torioni de Echaide, et al. "Detection of cattle naturally infected with *Anaplasma marginale* in a region of endemicity by nested PCR and a competitive enzyme-linked immunosorbent assay using recombinant major surface protein 5". *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 36, 777–82, 1998.
- [2] T. Molad, et al. "Molecular and serological detection of *A. centrale*- and *A. marginale*-infected cattle grazing within an endemic area". *Veterinary Microbiology*, 113, 55-62. 2006.

112- OPTIMIZACION DE UN ELISA INDIRECTO PARA CUANTIFICAR ANTICUERPOS BOVINOS CONTRA PARAINFLUENZA VIRUS 3

H Echague ³, C Ferrecio ³, S García ³, S Maidana^{1,2,4}, A Rodríguez ², M Odeon ^{1,2}, V Parreño ², S Romera^{1,2,3,4}

1 CONICET; 2 CICVyA-INTA Castelar; 3 Universidad del Salvador; 4 Universidad de Morón.

e-mail: romera.alejandra@inta.gob.ar

Introducción

Parainfluenza virus tipo 3 (PIV3) es un virus envuelto de ARN simple cadena y polaridad negativo, pertenece al género *respirovirus* y a la familia *Paramixoviridae*. Este virus ocasiona graves pérdidas en términos de morbilidad y reducción de la producción en el ganado vacuno (Ellis, 2010). En nuestro país la infección por PIV3 fue detectada por evidencia serológica en la década del 80'. Relevamientos serológicos realizados en la década del 2000 en rodeos bovinos no vacunados de Jujuy y Neuquén indicaron que el 100% de los bovinos adultos resultaron seropositivos para anticuerpos contra este agente viral. La técnica gold standard para la determinación de anticuerpos anti PIV3 es la inhibición de la hemoaglutinación (IH), sin embargo, esta técnica resulta poco efectiva por su falta de objetividad. Por lo tanto, se describe en el presente trabajo la optimización de un ELISA indirecto (se amplificó el antígeno viral en células RK13 para evaluar anticuerpos contra PI3 en sueros bovinos. Para establecer el punto de corte se realizó una curva de frecuencia con sueros positivos y negativos de historia conocida.

Materiales y Métodos

La cepa de referencia SF4 de PI3 se multiplicó a partir de un virus semilla, en frascos con monocapas de células de riñón de conejo (RK13) a 37°C con 5% CO₂. Se inoculó 1 ml del virus semilla, se adsorbió por 1 hora a 37°C y posteriormente se agregó medio de cultivo mínimo esencial de Eagle (MEM-E, Gibco). La infección se dejó progresar durante 24 horas hasta detectar un 80% de la monocapa afectada, para congelar a -70°C inmediatamente.

Purificación viral para antígeno

Las células infectadas RK13 fueron lisadas mediante 3 ciclos de congelación y descongelación. Después de una centrifugación inicial a 3000g durante 15 minutos, se añadieron a los lisados celulares polietilenglicol 8000 (Sigma) 10%. Se incubó durante 4 horas a 4°C. El virus se sedimentó a 12000g durante 60 minutos a 4°C. El pellet se resuspendió en 2.5 ml de buffer NET y 2.5 ml de Glicerol. Finalmente se fraccionó el antígeno y se conservó a -20°C.

Optimización de un ELISA indirecto para evaluar anticuerpos contra PI3 en sueros bovinos

Se optimizó el ELISA indirecto para cuantificar anticuerpos contra PI3 en sueros bovinos amplificando el virus PI3 en células RK13. Se evaluó y seleccionó esta línea celular para disminuir el pegado inespecífico de anticuerpos a antígenos celulares que se observaba cuando se amplificaba en MDBK reportado previamente (Maidana, 2013).

Determinación de punto de corte y cuantificación de anticuerpos bovinos mediante ELISA indirecto.

Para establecer el nuevo punto de corte en el ELISA indirecto optimizado utilizando células RK13 se testearon sueros bovinos de historia conocida.

Se sensibilizaron 24 horas a 4°C placas Inmulon IB con el antígeno amplificado en RK13. El bloqueo se efectuó con 50 µl de *buffer* PBS-T ovoalbúmina 1% p/v (PBS-T OVA 1%) durante media hora a 37°C con agitación constante. Se efectuaron tres lavados. Posteriormente, los sueros se

agregaron a la placa en una dilución (1:40), en PBS-T OVA 1% y se incubaron 1 hora a 37°C con agitación. Se efectuaron tres lavados sucesivos y se agregó un anticuerpo anti bovino conjugado con peroxidasa (HRP, *horse radish peroxidase* - Kirkegaard & Perry Laboratories, KPL) en una dilución (1:2000) durante una hora. Se procedió al revelado utilizando agua destilada, peróxido de hidrógeno y el cromógeno orto-fenildiamina (OPD) (Sigma). Luego de 10 minutos la reacción fue frenada agregando ácido sulfúrico. La absorbancia se midió a 490nm (A490) en un lector de ELISA (Multiskan FC).

Resultados

Para determinar el punto de corte se corrieron 80 sueros de historia conocida, 50 sueros positivos y 30 sueros negativos a PI3. El 93% de los sueros negativos tuvieron D.O.C menores a 0.2 y el 78 % de los sueros positivos tuvieron D.O.C entre 0.35 y 0.8 Determinandose el punto de corte como el menor valor de absorbancia a partir del cual se considera un suero positivo, en este caso es de 0.3.

El punto de corte se determinó en una densidad óptica corregida mayor o igual a 0.3? a partir de la cual se consideran los sueros positivos.

Discusión

Se optimizó el ELISA indirecto previamente desarrollado (Maidana, 2013) para cuantificar anticuerpos contra PI3 en sueros bovinos amplificando el virus PI3 en células RK13, de esta manera se logró disminuir notablemente el background observado en la estandarización previa donde se amplificaba el virus en MDBK. Para mantener los mercados comerciales internacionales, la determinación de la seroprevalencia y la vacunación de los rebaños serán obligatorias en un futuro cercano. El ELISA desarrollado aquí representa una técnica complementaria a la IH para determinar anticuerpos contra PIV3 de bovinos.

Por otro lado dado la reciente resolución de SENASA N° 598/2012 donde se exige el control inmunogénico en modelo cobayo de vacunas virales inactivadas no vesiculares para bovinos resultará de interés el desarrollo de ELISA para cuantificar sueros de cobayos contra PI3 inducidos por dichas vacunas y correlacionarlos con los títulos obtenidos por las mismas vacunas en el bovino determinadas por el ELISA bovino. El ELISA desarrollado resulta una técnica rápida, cuantitativa y complementaria a la IH para cuantificar anticuerpos contra PIV3 de bovinos y podría estar disponible comercialmente en el país en un futuro cercano.

Bibliografía

- Maidana S, Ferrufino C y Romera S. Desarrollo de un ELISA indirecto para cuantificar anticuerpos bovinos contra parainfluenza virus 3. Revista de la Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. ISSN 0328-6312 .N° 11, 2013. Universidad de Morón, Argentina
- ELLIS, J.A., 2010. Bovine parainfluenza-3 virus. The Veterinary clinics of North America 26, 575-593.

I13- DINAMICA DE ANTICUERPOS CONTRA *Actinobacillus Pleuropneumoniae* en hembras con diferente número ordinal de partos

P. Tamiozzo¹, A. Carranza¹, B. Menseguez¹, A. Ambrogio¹

1- Depto Patología Animal- facultad de Agronomía y veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto. Ruta 36 km 601. Río Cuarto, Córdoba, Argentina. CP 5800. E-mail: ptamiozzo@ayv.unrc.edu.ar.

Introducción

La inmunidad pasiva juega un papel importante en la protección contra PCP (Krejci et al., 2005), una enfermedad respiratoria contagiosa causada por *Actinobacillus pleuropneumoniae*. El efecto del número de partos de la cerda en relación a la respuesta de anticuerpos contra el patógeno es poco claro puesto que mientras algunos autores (Sjolund et al., 2011; Crujisen et al.,1995) han informado niveles de anticuerpos más altos en cerdas jóvenes, otros (Fablet et al., 2011) lo han hecho en cerdas más viejas. Dado que se ha informado de que los anticuerpos de cerdas se transfieren desde la sangre a la ubre durante el último mes de gestación (Wallgreen et al., 1998), suponiendo que el nivel de anticuerpos en el calostro y/o leche están relacionados con el nivel de anticuerpos en el suero de cerdas, el objetivo de este estudio fue determinar el efecto del número de partos en la respuesta de anticuerpos frente a *A. pleuropneumoniae* antes, durante y después de la gestación.

Materiales y métodos

El estudio se realizó en una granja ciclo completo de 3 sitios de 4500 madres ubicado en la provincia de Santa Fe. La piara tenía un historial de PCP. Se realizó un estudio longitudinal colectando muestras de sangre de 69 cerdas de 1 a 9 partos al día 0 de gestación, al día 55 de gestación y a los 2-5 días post-parto. Las muestras fueron procesadas por ELISA (APP-prueba Apx IV Ab, IDEXX, ME, EE.UU.), de acuerdo a las instrucciones del fabricante y los resultados expresados en densidad óptica (DO). Para el análisis de los resultados las hembras fueron divididas en tres grupos de bajo (1), intermedio (2-4) y alto (5 a 9) número ordinal de partos y se calculó la proporción de positivos y la media de la DO en cada muestreo.

Resultados

La proporción (porcentaje) de hembras seropositivas fue aumentando según aumentaba el número de partos (tabla 1), al igual que los valores medios de DO. Sin embargo hubo comportamientos diferentes de las DO entre los grupos en los distintos momentos del muestreo (Grafico 1).

Partos	Muestras		
	Día 0	Día 55	postparto
BAJO	8/13 (61,5%)	10/12 (83,3%)	8/13 (61,5%)
INTERMEDIO	24/26 (92,3%)	24/25 (96%)	25/26 (96,1%)
ALTO	30/30 (100%)	27/30 (90%)	30/30 (100%)
TOTAL	62/69 (89,8%)	61/67 (91%)	63/69 (91,3%)

Tabla 1. Proporción (%) de hembras positivas a ELISA.

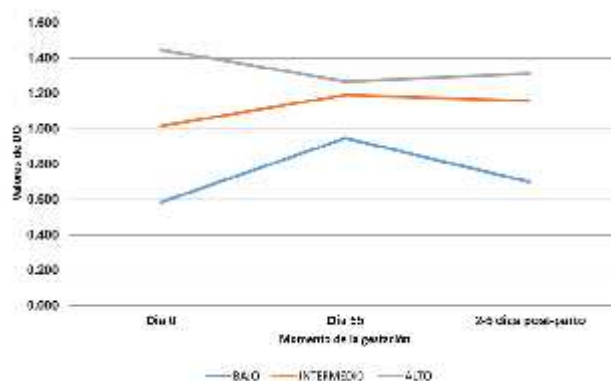


Gráfico 1. Valores de DO de las hembras.

Discusión

Los resultados muestran como en hembras de mayor número de partos la proporción de seropositivos y las DO aumentan, coincidiendo con Fablet et al. (2011), y esto es coherente dado que las hembras más viejas tendrían una exposición reiterada al agente y sostenida por más tiempo respecto a las hembras más jóvenes. En las hembras de bajo número de partos se observa una caída en los niveles de anticuerpos (sugerido por los valores de DO) entre el primer muestreo, al día 0 de gestación y el segundo, a los 55 días de gestación, para mantener más o menos la misma tendencia hacia el último muestreo post-parto, coincidiendo con Wallgreen et al. (1998) en la transferencia de anticuerpos desde la sangre a la glándula mamaria. Sin embargo, en hembras de alto número de partos, en mayor medida, y también en hembras de intermedio número de partos, de modo menos marcado, el comportamiento fue distinto ya que se observa una caída en los niveles de anticuerpos entre los 55 días y el post-parto debido posiblemente a la citada transferencia de anticuerpos, pero entre el primer muestreo y el segundo hay un aumento de los mismos, quizás debido a una infección activa dentro del galpón de gestación. Comprender este fenómeno sería muy importante dada la existencia de subpoblaciones de hembras con diferente estado inmune frente al agente y es un punto crítico en el control de la enfermedad.

Bibliografía

Sjolund et al., et al., 2011. Res Vet Sci. 91: 25-31.
Crujisen et al., 1995. Vet Q. 1995. 17:96-100.
Krejci et al., 2005. J Vet Med B. 52:190-196
Fablet et al., 2011. Vet Microbiol. 147: 329-39.
Walgreen et al., 1998. Vet Microbiol. 60:193-205.

I 14- RESPUESTA INMUNE HUMORAL EN TERNERAS PREPÚBERES INMUNIZADAS CON LA CEPA LOCAL NC- Argentina LP1 DE *NEOSPORA CANINUM*

Y Hecker^{1*}, F Fiorani¹, I Gual¹, MR Leunda², S Pereyra², M Mazzanti², L Olmos², I Llada², J Migliavacca², E Louge², LM Campero³, P Zamorano³, G Cantón², A Odeón², DP Moore¹.

¹INTA-CONICET, EEA Balcarce, ²Sanidad Animal, INTA, EEA Balcarce, ³Lab. de Inmunoparasitología, FCV UNLP-CONICET, ⁴Instituto de Virología, INTA EEA Castelar. *hecker.yanina@inta.gob.ar

Introducción

Neospora caninum es protozoo intracelular obligado causante de la neosporosis bovina, enfermedad que provoca abortos y genera graves pérdidas económicas en la industria ganadera mundial. Estas mermas justifican la necesidad de avanzar en la comprensión de los mecanismos de infección y patogenia así como también en la caracterización de los mecanismos inmunes que brindan protección contra la enfermedad. Aunque se han realizado numerosas investigaciones en el desarrollo de inmunógenos para el control de la enfermedad, en la actualidad no existen inmunógenos comerciales ni experimentales capaces de evitar la infección en bovinos. Ha sido reportado que aquellos aislamientos de *N. caninum* obtenidos a partir de terneros asintomáticos congénitamente infectados podrían estar atenuados naturalmente en su virulencia y serían posibles candidatos vacunales (Regidor-Cerrillo *et al.* 2008). En este sentido son varios los interrogantes que se plantean aún. Uno de ellos es si la utilización como inmunógeno vacunal de una cepa viva de *N. caninum*, aislada de terneros congénitamente infectados asintomáticos, en terneras prepúberes genera respuesta inmune sin provocar infección crónica en el animal. El objetivo de este trabajo fue evaluar la respuesta inmune humoral en terneras prepúberes inoculadas con la cepa local de *N. caninum* NC-Argentina LP1, aislada a partir de terneros asintomáticos congénitamente infectados.

Materiales y métodos

Se utilizaron 48 terneras raza Aberdeen Angus seronegativas a *N. caninum* de entre 6 y 8 meses de edad libres de otras enfermedades reproductivas. Las hembras fueron asignadas al azar en 2 grupos con los siguientes tratamientos: Grupo A ($n = 24$): animales inmunizados por vía subcutánea (SC) con taquizoítos vivos; Grupo B ($n = 24$): animales inoculados con placebo (solución fisiológica estéril-SFE-). Como inmunógeno experimental se utilizaron taquizoítos vivos de la cepa de *N. caninum* NC-Argentina LP1 (Campero *et al.*, 2015), los cuales se multiplicaron en células VERO mantenidas en medio con 2% de suero fetal bovino e incubadas en estufa con 5% de CO₂. Los taquizoítos fueron cosechados durante su fase intracelular cuando se observó un 80% de infección celular. El inmunógeno fue aplicado en una dosis de 1×10^6 taquizoítos en 3 ml de SFE por vía subcutánea al inicio del ensayo (día 0). Luego de la inmunización se realizó un examen clínico general y se registró la temperatura rectal diariamente durante 5 días. Se realizaron muestreos de sangre para obtención de suero al día 0, 11, 21, 30 y 60 post inoculación (PI). Finalmente, se utilizó una técnica de ELISA indirecto para la determinación de IgG total con modificaciones como fue ya mencionado (Hecker *et al.* 2013). Las muestras de suero fueron analizadas por duplicado y el valor de densidad óptica fue convertido a un índice relativo porcentual (IRPC) usando la siguiente fórmula: $IRPC = [(OD405 \text{ muestra} - OD405 \text{ control negativo}) / (OD405 \text{ control positivo} - OD405 \text{ control negativo})] \times 100$. Un valor de $IRPC \geq 8.2$ indicó un resultado positivo.

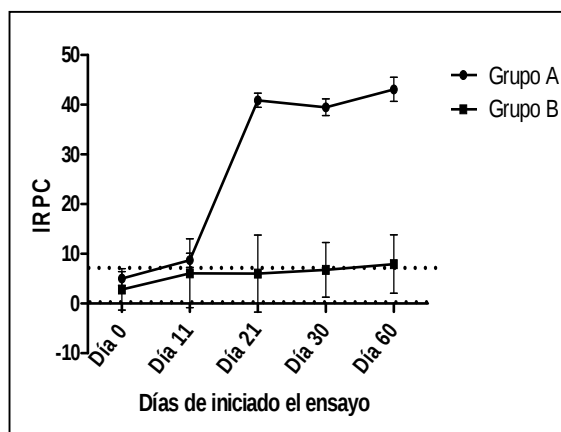
Resultados

La temperatura media observada en ambos grupos fue de $39,5 \pm 0,06$ °C durante los 5 días PI. Las temperaturas registradas en los animales no difirieron estadísticamente

entre grupos ni a través del tiempo ($P > 0,05$). Los animales no registraron reacción inflamatoria evidente en el sitio de inoculación.

Los valores de IRPC de los dos grupos experimentales obtenidos por ELISA se observan en la Figura 1. Se detectaron anticuerpos específicos en animales del grupo A desde el día 11 PI ($8,71 \pm 6,30$), aunque los valores de IRPC recién fueron significativamente mayores respecto al grupo B a partir del día 21 PI ($40,80 \pm 6,44$) ($P < 0,001$) y continuaron siendo elevados al día 30 ($39,5 \pm 7,50$) y 60 PI ($43 \pm 10,9$) ($P < 0,001$). No se observaron valores de IRPC mayores a 8 en el grupo B a través del tiempo.

Figura 1: Cinética de anticuerpos específicos para *Neospora caninum* representada como una media de los valores de IRPC.



Discusión y conclusiones

Los resultados del presente trabajo evidencian que hembras prepúberes inmunizadas con la cepa NC-Argentina LP1 incrementaron significativamente sus niveles de anticuerpos al día 21 PI. Estos hallazgos coinciden con resultados previos obtenidos en otros trabajos, aunque en el presente trabajo los animales inmunizados no presentaron hipertermia PI (Innes *et al.* 2001, Williams *et al.* 2007, Hecker *et al.* 2013). Estos resultados preliminares obtenidos indican el desarrollo de una respuesta inmune activa. Para ampliar los estudios inmunológicos se procederá a evaluar la respuesta inmune mediada por células mediante la determinación de los niveles de citoquinas. Este ensayo continuará cuando estas hembras sean sexualmente maduras, momento en el que se evaluará la respuesta inmune generada durante su primera gestación y se comprobará si hubo transmisión vertical de la infección a la progenie de la cepa utilizada como inmunógeno vacunal.

Bibliografía

Campero *et al.* 2015. Exp Parasitol. 155: 8-12.
Hecker *et al.* 2013. Vet Parasitol. 197: 436-446.
Innes *et al.* 2001. Int. J. Parasitol. 31: 1523-1534.
Regidor-Cerrillo *et al.* 2008. Parasitology 135, 1651-1659.
Williams *et al.* 2007. Infect.Immun. 75: 1343-1348.

PARASITOLOGIA

P1- EFECTO DE LOS NEMATODES GASTROINTESTINALES SOBRE LOS NIVELES SERICOS DE CALCIO, FOSFORO, MAGNESIO, COBRE Y ZINC EN TERNEROS.

Micheloud, J.F.; Martínez, G.M.; Rosa, D.E; Ventura, M.B; Mattioli, G.A; Suárez, V.H.

AISA-IIACS Salta/INTA. RN 68, km 72- Salta, Argentina.2. Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias-UCASAL. 3- Laboratorio de minerales, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata.

micheloud.juan@inta.gob.ar

Introducción

Los nematodos gastrointestinales (NGI) son un problema sanitario de gran impacto productivo a nivel mundial. Sus efectos se deben esencialmente a la acción expoliadora que estos tienen al competir con el huésped por los nutrientes¹. Su impacto sobre la salud y la ganancia de peso han sido ampliamente estudiados. Los NGI impactan sobre el metabolismo del hospedador a varios niveles¹. Su efecto sobre el metabolismo mineral ha sido comprobado aunque los estudios al respecto son escasos. El presente trabajo describe variaciones en los niveles de calcio, fósforo, magnesio, cobre y zinc en terneros parasitados y no parasitados en condiciones de pastoreo en un establecimiento ganadero del NOA.

Materiales y Métodos

Se seleccionaron dos grupos de terneros, Bradford, de entre 6 y 8 meses de edad y recientemente destetados. Cada grupo estaba constituido por 10 animales homogéneos entre sí. El "grupo tratado" (GT) fue desparasitado desde el inicio del ensayo (marzo, 2015) a intervalos de 45 días hasta septiembre y luego en diciembre con moxidectin a una dosis de 200 mcg/kg. El "grupo control" (GC) no recibió ninguna desparasitación durante el periodo de estudio. Ambos grupos coexistieron durante todo el periodo y fueron mantenidos bajo pastoreo con suplementación variable según la oferta forrajera. Durante un año y a intervalos de entre 30 a 45 días se efectuaron muestreos de materia fecal y suero. La materia fecal fue procesada por la técnicas de McMaster modificada y de sedimentación flotación para descartar la presencia de *Fasciola hepatica*. Además se determinaron los géneros de nematodos por identificación de larvas (L3) en los coprocultivos. Las muestras de sangre se obtuvieron por punción yugular. Se extrajo suero libre de hemólisis por centrifugación para la determinación de Ca, P, Mg, Cu y Zn. Las concentraciones de Ca, Mg, Cu y Zn se midieron por espectrofotometría de absorción atómica de llama (Perkin Elmer AAnalyst 200), y las determinaciones de P se realizaron mediante espectrofotometría UV-visible (Perkin Elmer-Lambda25), según indicaciones del fabricante. Las diferencias de los niveles minerales entre grupos se compararon por análisis de varianza (InfoStat).

Resultados

Los resultados de los conteos de huevos por g de heces (hpg) y minerales para cada uno de los periodos se exponen en la siguiente Tabla 1. Mientras que los hpg del GC se elevan hacia el invierno, los hpg del GT disminuyen considerablemente a partir de los tratamientos, elevándose sólo hacia el final al espaciarse la dosificación. El género predominante fue *Cooperia* (81%) y en mucha menor medida se recuperó *Haemonchus*. En los niveles séricos de minerales sólo para el cobre se observaron diferencias significativas ($p=0,001$) entre ambos grupos a partir del segundo muestreo tal como se aprecia en el Gráfico 1. Las diferencias en la cupremia persisten hasta el final del ensayo.

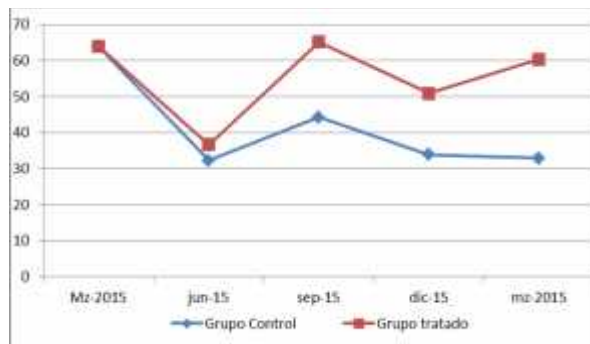


Gráfico 1: diferencias entre los niveles de cobre promedio en cada uno de los muestreos efectuados durante el ensayo.

Discusión

A pesar de los escasos antecedentes sobre el efecto de los NGI sobre el Cu sérico^{1,2}, en este estudio se pudo observar un notorio efecto sobre la cupremia que perduró a pesar de la interrupción de los tratamientos en diciembre. La disminución de las cupremias en ambos grupos en jun-15 indica una carencia natural de Cu en la zona, y resulta evidente que la parasitosis impidió la recuperación del estatus de Cu. En concordancia, Suarez et al., informan bajos niveles de cobre sérico en terneros infectados con NGI en el oeste pampeano³. El efecto negativo de los NGI sobre el estatus de Cu ha sido claramente demostrado en ovinos inmunosuprimidos⁴ y en humanos, donde estaría asociado a una mala absorción intestinal de Cu⁴.

Considerando que tanto la parasitosis como la carencia de Cu generan menor productividad, estos resultados alertan sobre la imposibilidad de recuperación del estatus de Cu secundario al efecto de los NGI, remarcando la necesidad del control sanitario de ambos problemas.

Agradecimientos:

Al veterinario asesor (Dr. Raúl Marín), a la empresa POCOY S.A. y al personal del establecimiento que contribuyó a que este trabajo fuera posible.

Bibliografía

1. Bremner KC. Parasitic gastro-enteritis and its effect on the blood and liver copper levels of dairy calves. Aust J Agric Res 1959;10: 471-486.
2. Coop, R. L., & Kyriazakis, I. (1999). Nutrition-parasite interaction. Veterinary parasitology, 84(3), 187-204.
3. McCosker P J. Observations on blood copper in the sheep. Res Vet Sci 1968;9:91-97.
4. Prohaska, J.R. (2006) Copper. In: Filer, L.J. and Ziegler, E.E. (eds) Present Knowledge in Nutrition, 7th edn. International Life Science Institute-Nutrition Foundation, Washington, DC.
5. Suarez V.H., Ciminari O.E., Bedotti D.O., Busetti M.R y Bello E.M. 1990. Epidemiology, effects and control of nematode infection on Zebu-crossbred, Hereford and Hereford x Brahman calves on Argentina's Western Pampas. Vet. Parasitol.,35, 79-91.
6. Suttle, NF. The Mineral Nutrition Of Livestock 4rd Ed. Chapter 11: Copper. Pp: 255-305. 2010. CABI Head office. Oxfordshire, UK.

		HPG	Ca	Mg	PO	Cu	Zn
mar-15	GC	590	9,6±1,4	2,0±0,25	6,5±1,5	62,6±15	94,9±24
	GT	550	10,1±1,6	2,0±0,26	6,9±0,99	65,7±10,3	92,4±14,02
jun-15	GC	907	10,4±1,6	2,1±0,5	5,5±0,14	32,3±16	114,5±30
	GT	86	10,4±2,19	2,07±0,44	5,2±0,58	36,7±11	109,4±12
sep-15	GC	237	10,1±0,46	2,27±0,29	6,3±1,17	44,3±10,62	118,2±13,3
	GT	4	9,5±1	2,3±0,6	6,4±0,9	65,1±13	124,2±28
dic-15	GC	133	11,4±1,8	2,1±0,3	3,2±0,3	33,9±11	118,6±67
	GT	336	10,7±1,8	2,3±0,33	3,05±0,4	50,9±11	112±44
mar-16	GC	84	11,1±1,6	2,5±0,3	3,5±0,4	32,9±16	109,3±15
	GT	141	10±1,8	2,3±0,3	3,5±0,2	60,3±8	118,3±26

Tabla 1: diferencias entre los niveles minerales promedio y HPG en cada uno de los muestreos efectuados durante el ensayo.

P2- TASAS DE SEROPOSITIVIDAD PARA *NEOSPORA CANINUM*, *TOXOPLASMA GONDII* Y *SARCOCYSTIS* SPP. EN CIERVOS COLORADOS (*CERVUS ELAPHUS*).

Dellarupe A ^{1,2}, Moré G ^{1,2}, Soler JP³, Rambeaud M¹, Pardini L^{1,2}, Campero LM^{1,2}, Gos ML^{1,2}, Unzaga JM¹, Venturini MC¹.

¹Laboratorio de Inmunoparasitología, FCV, UNLP. ²CONICET. ³Actividad privada.

Introducción

Las infecciones por los protozoos parásitos de vida intracelular *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii* y *Sarcocystis* spp. afectan a una amplia variedad de animales alrededor del mundo (1, 2, 4). La neosporosis y toxoplasmosis se asocian principalmente con la aparición de abortos en bovinos y pequeños rumiantes. Es incierta la implicancia de los ciervos en la epidemiología de la toxoplasmosis humana (1). La sarcocystosis en ciervos colorados (*Cervus elaphus*) es causada por al menos 7 especies diferentes, es generalmente asintomática y se desconoce el potencial rol zoonótico de esta infección (2). Una de las pruebas diagnósticas indirectas más utilizadas para evidenciar infecciones con estos protozoos es la prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI). Se conocen tasas de seroprevalencia de estas infecciones en rumiantes de Sudamérica, sin embargo se desconocen estos datos en ciervos (1, 2, 4).

El objetivo de este estudio fue evaluar la tasa de positividad para neosporosis, toxoplasmosis y sarcocystosis en rodeos de ciervos colorados de la provincia de Buenos Aires.

Materiales y métodos

Se obtuvieron muestras de suero de 282 ciervos colorados de 5 establecimientos de cría de la provincia de Buenos Aires. Se recolectaron 62, 52, 75, 51 y 42 muestras de los rodeos denominados A, B, C, D y E respectivamente. En los rodeos A, B y C se analizaron sueros de 59, 39 y 58 animales respectivamente, en 3 oportunidades (intervalo trimestral) durante el año 2014, para los rodeos D y E se analizó solo el único muestreo recibido. Las muestras fueron procesadas por IFI utilizando antígeno de *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* y *Sarcocystis aucheniae* separadamente, como se ha descrito previamente (4). Los sueros fueron diluidos en base 2 iniciando en 1/100 hasta título final. Como conjugado se utilizó anti-IgG bovina (Sigma) y se incorporaron controles positivos y negativos de bovinos. Las tasas de positividad de cada rodeo para cada infección se analizaron mediante Chi cuadrado (WinEpi). En los rodeos A, B y C se analizó la seroconversión (cambio de 4 veces el título durante el período en estudio) para *N. caninum* y *T. gondii*.

Resultados

Del total de animales, se registró un 33,3%, 61,3% y 68,4% de muestras positivas para *N. caninum*, *T. gondii* y *Sarcocystis* spp. respectivamente (Tabla 1).

Tabla 1: Distribución de muestras positivas (título ≥ 100) para cada una de las serologías de los distintos rodeos. Letras distintas indican diferencias significativas.

	<i>N. caninum</i>	<i>T. gondii</i>	<i>Sarcocystis</i> spp.
Rodeo	n (%)	n (%)	n (%)
A	31(50) ^a	28 (45,2) ^a	42 (67,7) ^a
B	10 (19,2) ^b	20 (38,5) ^a	28 (53,8) ^a
C	24 (32) ^c	53 (70,7) ^b	61 (81,3) ^b
D	27 (52,9) ^a	50 (98) ^c	29 (56,9) ^a
E	2 (4,8) ^d	22 (52,4) ^a	33 (78,6) ^b
TOTAL	94 (33,3)	173 (61,3)	193 (68,4)

Para *N. caninum* seroconvirtieron 9 (15,3%), 1 (2,6%) y 2 (3,4%) animales de los rodeos A, B y C respectivamente.

Para toxoplasmosis seroconvirtieron 6 (10,2%), 34 (87,2%) y 8 (13,8%) para los rodeos A, B y C respectivamente. En el rodeo A, 3 de los animales que seroconvirtieron a *T. gondii* también lo hicieron para *N. caninum*.

Conclusión y discusión

La tasa de seropositividad para neosporosis y toxoplasmosis observadas en el presente estudio resultaron superiores a las reportadas en diversos países de Europa y Norteamérica (1, 4, 5). El uso de antígenos heterólogos para IFI (en este caso *S. aucheniae* que afecta a camélidos sudamericanos) permite la identificación de anticuerpos género específicos, por lo que el resultado se expresa como positivo a *Sarcocystis* spp. La seropositividad para *Sarcocystis* spp. resultó similar a la detectada en otras especies de rumiantes y cérvidos (2). Además, las mencionadas tasas presentaron diferencias significativas entre los rodeos, sugiriendo diferencias importantes en los factores de riesgo para cada establecimiento.

Este es hasta nuestro conocimiento, el primer estudio que demuestra seroconversión para *N. caninum* y *T. gondii* en ciervos colorados. Futuros estudios serán llevados a cabo para relacionar la asociación entre la presencia de abortos y positividad para algunos de estos agentes.

Bibliografía

- 1-Dubey JP. Toxoplasmosis of animals and humans. 2nd ed. Boca Raton, Florida: CRC Press (2010) [313 pp.].
- 2-Dubey JP, Calero-Bernal R, Rosenthal BM, Speer CA, Fayer R (2015) Sarcocystosis of animals and humans. Boca Raton, Florida: CRC Press.
- 3-Moré G., Pardini L., Basso W., Marín R., Bacigalupe D., Auad G., Venturini L., Venturini M.C. Seroprevalence of *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii* and *Sarcocystis* sp. in llamas (*Lama glama*) from Jujuy, Argentina. 2008. Veterinary Parasitology, 155: 158-160.
- 4- Pruvot M, Hutchins W, Orsel K. 2014. Statistical evaluation of a commercial *Neospora caninum* competitive ELISA in the absence of a gold standard: application to wild elk (*Cervus elaphus*) in Alberta. Parasitology Research 113:2899–2905.
- 5- San Miguel JM, Gutiérrez-Espósito D, Aguado-Martínez A, González-Zotes E, Pereira-Bueno J, Gómez-Bautista M, Pedro Rubio, Ortega-Mora LM, Collantes-Fernández E, Álvarez-García G. 2016. Effect of different ecosystems and management practices on *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in wild ruminants in Spain. Journal of Wildlife Diseases 52(2):293-300.

P3- NEOSPOROSIS (*Neospora caninum*): REPORTE DE UN CASO EN UN CANINO DEL NORTE DE LA PROVINCIA DE CORRIENTES

R. Cardozo^{1,2}, C. Storani², D. Martinez³, F. Bogado¹, M.F. Cipolini²

¹Hospital de Clínicas, Facultad de Ciencias Veterinarias UNNE- ² Cátedra de Enfermedades Infecciosas, Facultad de Ciencias Veterinarias UNNE Sgo. Cabral 2189, 3400 Corrientes. E-mail: rb-cardozo@hotmail.com

Introducción

La neosporosis, causada por *Neospora caninum*, es una enfermedad grave que afecta a caninos y bovinos alrededor del mundo, actuando este último como huéspedes intermediarios. El agente etiológico es un protozoo del filo apicomplexa, reportado por primera vez en caninos en 1984. Los perros domésticos (*Canis familiaris*) y los coyotes (*Canis latrans*) son los únicos huéspedes definitivos. En bovinos causa repetición de celos, abortos y nacimiento de ternos débiles. Los perros de cualquier edad pueden desarrollar enfermedad generalizada en diferentes órganos incluidos la piel y trastornos neurológicos que se manifiestan con meningoencefalitis, polimioisitis y poliradiculoneuritis. La infección se da de manera clínica o subclínica. La transmisión ocurre en forma vertical y horizontal. Las perras infectadas subclínicamente pueden transmitir la enfermedad a sus fetos y estos nacer infectados. Los signos neurológicos son dependientes del sitio del sistema nervioso central que esté parasitado. Generalmente comienzan con una paresia de los miembros posteriores que progresa hacia una parálisis generalizada. Los animales afectados pueden estar alertas y vivir por meses. Otras disfunciones reportadas son dificultad para tragar, parálisis de la mandíbula, atrofia muscular y falla cardíaca. No se conoce susceptibilidad sexual ni racial, pero se registra una mayor casuística en labrador, golden retriever, bóxer y basset hound. El diagnóstico se realiza por Inmunofluorescencia indirecta (IFI), aglutinación, ensayo de inmunoenlaces (ELISA), biopsia de músculo afectado. El tratamiento se realiza con clindamicina, sulfadiazina y pirimetamina, solas o en combinaciones.

Materiales y métodos

Caso Clínico: se presentó a la consulta un canino macho de 8 años, mestizo, con decaimiento, anorexia, paraparesia que progresó hacia una tetraparesia y luego hacia una tetraparálisis flácida con evolución de 4 a 7 días aproximadamente, registrándose síndrome de motoneurona inferior. El canino provenía de un área rural del Departamento Capital, ubicado en el norte de la provincia de Corrientes, donde convivía con animales de granja. Se tomaron muestras de sangre para realizar un perfil bioquímico y hematológico, para lo cual se utilizó un equipo myndray BC-2800 y Metrolab 1600 plus. Se obtuvo suero para diagnóstico de toxoplasmosis y neosporosis. Para toxoplasmosis se realizó el test de aglutinación directa con anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii*. Para diagnóstico de *Neospora caninum* se utilizó la Inmunofluorescencia Indirecta (IACA Laboratorios).

Resultados

Tanto el hemograma como el perfil bioquímico estuvieron dentro de los parámetros normales. El test de toxoplasmosis fue negativo; el resultado de neosporosis fue positivo en la dilución 1/200. El canino con diagnóstico presuntivo se trató con trimetoprima-sulfonamida a dosis de 20 mg/kg cada 12 hs durante 4 semanas. Además de tratamiento de sostén a base de fluidos, vitaminas, glucosa EV y aminoácidos. El paciente a los 5 días comenzó a evidenciar una mejoría leve con intentos de incorporarse, a los 12 días ya pudo caminar normalmente.

Discusión y conclusiones

La toxoplasmosis y la neosporosis son enfermedades que presentan signos clínicos comunes por lo que debe hacerse diagnóstico diferencial (Miró, 2010). Se elige la IFI para el diagnóstico de laboratorio como prueba de uso general, ya que títulos bajos asociados con signos clínicos compatibles confirman la enfermedad. La reactividad cruzada con *T. gondii* es rara y los perros pueden estar infectados por ambos parásitos (Dubey, 2010). La prevalencia de anticuerpos contra *Neospora caninum* es significativamente mayor en perros de granja en comparación con perros de ciudad (Nazira et al., 2014), lo cual coincide con el caso descrito, en donde un dato anamnésico de relevancia fue la procedencia rural del animal.

La neosporosis es una enfermedad altamente distribuida. Se debe tener presente tanto la infección subclínica como la enfermedad clínica, sobre todo en caninos que presenten paresias o parálisis progresiva y que vivan en áreas rurales por la presencia de los huéspedes intermediarios, sobre todo en áreas endémicas. En este caso, el diagnóstico temprano permitió un tratamiento exitoso.

Bibliografía

1. Miró, G. 2010. Toxoplasmosis. En: Enfermedades Infecciosas de los caninos y felinos. Ed. Intermédica. 1ª Ed.:281-283.
2. Dubey, J. 2010. Neosporosis. En: Enfermedades Infecciosas de los caninos y felinos. Ed. Intermédica. 1ª Ed.:285-289
3. Nazira, M., Masood Akhtar, A. Ayazb, M. Ahmadb, A. Ashraf, K. Azhar Alama, M. Amjad Ali b, M. Khalidb, A. Lindsay, D. 2014. *Neospora caninum* prevalence in dogs raised under different living conditions. Journal of parasitology. Short communication. Elsevier. 204. (364-368).

P4- EL PRIMER ESTUDIO COMPARATIVO INTER-LABORATORIAL IBEROAMERICANO DE PRUEBAS SEROLÓGICAS PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA NEOSPOROSIS BOVINA DEMOSTRÓ VARIABILIDAD DE RESULTADOS

LM Campero ^{1,2*}, J Moreno-Gonzalo ³, MC Venturini ¹, G Moré ^{1,2}, A Dellarupe ^{1,2}, M Rambeaud ¹, B Valentini ⁴, I Echaide ⁴, CM Campero ⁵, DP Moore ^{2,5}, M Fort ⁶, RA Mota ⁷, ME Serrano-Martínez ⁸, C Cruz-Vázquez ⁹, LM Ortega-Mora ³, G Álvarez-García ³.

¹Lab. de Inmunoparasitología, FCV, UNLP, Argentina. ²CONICET, Argentina. ³Grupo SALUVET, Dto. Sanidad Animal, FCV, Universidad Complutense de Madrid, España. ⁴Lab. de Inmunología y Parasitología, INTA Rafaela, Argentina. ⁵Sanidad Animal, INTA Balcarce, Argentina. ⁶Lab. de Salud Animal, INTA Anguil, Argentina. ⁷Dpto. Medicina Veterinaria, Universidad Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, Brasil. ⁸Lab. de Parasitología Animal, FAVEZ, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Perú. ⁹Instituto Tecnológico El Llano, Aguascalientes, México
lcampero@fcv.unlp.edu.ar

Introducción

El diagnóstico serológico de la infección por *Neospora caninum* es fundamental para el control de la enfermedad en los rodeos, ya que no hay vacunas disponibles ni tratamientos. El uso de pruebas no estandarizadas y diferentes puntos de corte dificulta las comparaciones de los resultados entre los laboratorios. En la actualidad la prueba más empleada en Latinoamérica es la inmunofluorescencia indirecta (IFI), ya que existe dificultad para adquirir ELISAs comerciales, los cuales ya han sido validados en estudios comparativos inter-laboratoriales en Europa y Norteamérica. Por tanto, es necesario realizar un estudio similar que compare las pruebas caseras o *in-house* que se emplean en esta región con la finalidad de conocer las características diagnósticas de las mismas. Dado que no existe una prueba *gold standard* para el diagnóstico de la infección por *N. caninum*, se han utilizado diversos criterios para estandarizar y comparar las pruebas. El criterio *gold standard* basado en **Información previa** utiliza datos epidemiológicos y serológicos y los relaciona con un diagnóstico certero. El criterio basado en la decisión de la **Mayoría de las pruebas** clasifica a un suero como positivo o negativo según los resultados de la mayoría de las pruebas comparadas. El objetivo del trabajo fue realizar un estudio de comparación y estandarización de las pruebas serológicas habitualmente empleadas en el diagnóstico de la infección por *N. caninum* en bovino, en el que han participado 4 laboratorios de Argentina, 1 de Brasil, 1 de Perú, 1 de Méjico y 1 de España.

Materiales y métodos

Cada laboratorio aportó sueros que fueron enviados al Laboratorio de Inmunoparasitología (LAINPA), UNLP para formar un panel ciego compuesto por **sueros de referencia** (n=80) y sueros de una **población diana** (n=351). Los sueros de referencia, representativos de la población diana, provenían de animales con sueros precalostrales positivos y negativos, hijos de madres positivas y negativas y sueros de vacas con resultados serológicos coincidentes en 2 muestreos consecutivos. Estos sueros se utilizaron para estandarizar los puntos de corte de las pruebas respecto al criterio **Información previa**. Los sueros de la población diana provenían de bovinos naturalmente expuestos y se utilizaron para comparar las pruebas respecto al criterio **Mayoría de las pruebas**. Se enviaron alícuotas del panel ciego a cada laboratorio participante para que realizaran las pruebas diagnósticas de rutina que fueron: IFI (realizada por 7 laboratorios) y/o ELISAs *in-house* y comercial (realizada por 3 laboratorios) (ver Tabla 1). Los resultados fueron remitidos al LAINPA, donde se utilizó el análisis TG-ROC relativo al criterio

Información previa con los sueros de referencia para determinar nuevos puntos de corte y se calcularon las áreas bajo la curva (AUC) de las curvas ROC para las pruebas analizadas (SigmaPlot12.0) considerando: no informativa (AUC=0,5), poco precisa (>0,5 AUC ≤0,7), moderadamente precisa (>0,7 AUC ≤0,9) y altamente precisa (>0,9 AUC ≤1) y perfecta (AUC=1). Se calculó la sensibilidad (Se), la especificidad (Esp) y la concordancia (índice kappa, k) con un intervalo de confianza de 95% (IC_{95%}) con los sueros de referencia y con los sueros de la población diana, con el punto de corte original y el sugerido con el análisis TG-ROC.

Resultados

En la Tabla 1 se detallan los valores de Se y Esp, calculados con el punto de corte original y con el nuevo punto de corte a partir de los sueros de referencia respecto al criterio de **Información previa**, junto con los valores del AUC. Los resultados mostraron una gran variabilidad entre las pruebas evaluadas, ya que 8 pruebas presentaron valores de Se o Esp inferiores al 90%, e incluso 2 IFIs y 1 ELISA valores de Se inferiores al 80% (Tabla 1). Los valores más elevados de Se, Esp, k y AUC correspondieron a las pruebas IFI 1 y 4 y ELISAs 1 y 2 (Tabla 1). El análisis TG-ROC determinó nuevos puntos de corte para las pruebas IFI 1, y los 3 ELISAs analizados. Adicionalmente, se calcularon los mismos parámetros con los sueros de la población diana a partir del criterio **Mayoría de las pruebas**. En general, las características diagnósticas mejoraron ligeramente o no se vieron afectadas (Tabla 1).

Discusión

Se ha realizado el primer estudio comparativo de pruebas serológicas para el diagnóstico de la neosporosis bovina en Iberoamérica. Dos pruebas mostraron elevada Se y Esp, mientras que en el resto de pruebas los valores de Se y Esp fueron variables. Recomendamos que los laboratorios empleen una misma prueba de IFI sensible y específica. Para ello, considerando la subjetividad de la técnica, previamente se debería incentivar el entrenamiento de los operadores para homogeneizar la interpretación de las lecturas y considerarlos conjugados y microscopios utilizados. Dos de las pruebas de ELISA también presentaron elevada Se y Esp, por lo que es recomendable su uso siempre que sea posible. En base a los resultados obtenidos se recomienda crear redes inter-laboratoriales para la validación de pruebas de diagnóstico serológico de la neosporosis bovina en la región.

Tabla 1: Características diagnósticas, valores del AUC y k obtenidos en relación a los criterios “Información previa” y “Mayoría de las pruebas” en función de los puntos de corte inicialmente recomendados y los recalculados tras el análisis TG-ROC.* Puntos de corte obtenidos tras el análisis TG-ROC.

Prueba serológica	Antígeno	Criterio de goldstandard: INFORMACIÓN PREVIA (sueros de referencia, n=80)					Criterio de goldstandard: MAYORIA DE PRUEBAS (sueros de una población diana, n= 351)			
		Pto.corte	Se, (IC _{95%})	Esp, (IC _{95%})	k	AUC	Se, (IC _{95%})	Esp, (IC _{95%})	k	
IFI 1	Taquizoito completo (in-house)	1:100	100 (98,68-100)	95,24 (87,61-100)	0,95	1	100 (99,46-100)	78,43 (73,19-83,68)	0,65	
		1:200*	94,74 (86,32-100)	97,62 (91,82-100)	0,92		97,87 (94,42-100)	87,55 (83,25-91,85)	0,78	
IFI 2	Taquizoito completo (in-house)	1:100	63,16 (46,51-79,81)	100 (98,81-100)	0,64	0,82	66,3 (56,1-76,51)	100 (99,8-100)	0,74	
IFI 3	Taquizoito completo (in-house)	1:100	86,11 (73,43-98,8)	97,62 (91,82-100)	0,84	0,93	93,33 (87,62-99,04)	95,12 (92,23-98,02)	0,87	
IFI 4	Taquizoito completo (in-house)	1:100	92,11 (82,22-100)	95,24 (87,61-100)	0,87	0,94	100 (99,46-100)	85,83 (81,34-90,31)	0,76	
IFI 5	Taquizoito completo (in-house)	1:100	72,97 (57,31-88,63)	100 (98,78-100)	0,74	0,86	65,43 (54,46-76,41)	97,91 (95,88-99,93)	0,7	
IFI 6	Taquizoito completo (in-house)	1:100	84,21 (71,3-97,12)	97,44 (91,19-100)	0,82	0,91	89,77 (82,87-96,67)	95,49 (92,68-98,3)	0,84	
IFI 7	Taquizoito completo (in-house)	1:100	60,53 (43,67-77,38)	97,62 (91,82-100)	0,59	0,8	75 (65,61-84,39)	94,82 (91,88-97,76)	0,72	
ELISA 1	Lisado de taquizoitossonicados (in-house)	≥25	84,21 (71,3-97,12)	95,24 (87,61-100)	0,80	0,98	90,22 (83,6-96,83)	96,84 (94,48-99,19)	0,87	
		≥18,5*	92,11 (82,22-100)	95,24 (87,61-100)	0,87		96,81 (92,72-100)	92,31 (88,78-95,83)	0,84	
ELISA 2	Lisado de taquizoitossonicados (comercial)	10/6	79,41 (64,35-94,47)	100 (98,81-100)	0,81	1	89,41 (82,28-96,54)	99,2 (97,89-100)	0,91	
		≥ 5,167*	92,11 (82,22-100)	100 (98,81-100)	0,92		93,62 (88,14-99,09)	97,19 (94,93-99,44)	0,91	
ELISA 3	Lisado de taquizoitossonicados (in-house)	8,2/6	97,3 (90,72-100)	81,58 (67,94-95,2)	0,79	0,98	96,7 (92,49-100)	79,75 (74,42-85,07)	0,66	
		≥12,09*	92,11 (82,22-100)	90,48 (80,41-100)	0,82		86,17 (78,66-93,68)	89,52 (85,5-93,53)	0,73	

P5- EPIDEMIOLOGÍA Y DIAGNÓSTICO DE LA PIROPLASMOSIS CANINA EN BUENOS AIRES

D. F. Eiras^{1,2}, D. Vezzani^{3,4}, G. Moré^{1,3}

¹Laboratorio de Inmunoparasitología, Departamento de Epizootiología y Salud Pública, FCV, UNLP, 60 y 118, La Plata, Buenos Aires, Argentina. ²Laboratorio DIAP (Diagnóstico en Animales Pequeños), Pueyrredón 1098, Banfield, Buenos Aires, Argentina. ³Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Buenos Aires, Argentina. ⁴Ecosistemas, Facultad de Ciencias Exactas, UNICEN, Tandil, Buenos Aires, Argentina. e-mail: diegoeiras@fcv.unlp.edu.ar

Introducción La piroplasmosis canina es una enfermedad producida por varias especies de protozoarios hemoparásitos, que afecta a los caninos domésticos y salvajes de todos los continentes. Pertenecen al grupo de enfermedades transmitidas por garrapatas (siglas en inglés CTBDs: *canine tick borne diseases*). La gravedad de la afección se encuentra relacionada con la patogenicidad de la especie implicada, pero en general se caracteriza por producir anemia, fiebre, anorexia, trombocitopenia y esplenomegalia, llegando a ser fatal en algunos casos. Hasta hace algunos años se consideraba que la infección podía ser producida solo por dos especies del género *Babesia*; distinción que estaba dada por el tamaño de las formas intraeritrocitarias: *Babesia canis* (> 2,5 µm) y *Babesia gibsoni* (< 2,5 µm). En la actualidad se sabe que existen varios géneros y especies que pueden afectar al perro, diferenciadas por la localización geográfica, la especie de garrapata con capacidad vectorial y las variaciones antigénicas y moleculares. En nuestro país se han descrito hasta el momento *Babesia vogeli* y *Rangelia vitalii*. La primera es transmitida por la garrapata marrón del perro *Rhipicephalus sanguineus* y produce una enfermedad leve a moderada. La infección con *R. vitalii* es transmitida por *Amblyomma aureolatum* y fue reportada más recientemente en perros del litoral argentino. Produce una enfermedad muy peculiar caracterizada por el sangrado espontáneo de las orejas y pabellón auricular de los perros afectados. Por último, existe evidencia de la presencia de *B. gibsoni* (*sensu stricto*) en perros de la provincia de Salta. En el ciclo biológico de los piroplasmas, las garrapatas albergan las formas de multiplicación sexual del parásito y actúan como hospedadores definitivos. Las formas infectantes son inoculadas en el hospedador intermediario vertebrado cuando la garrapata se alimenta. Las formas sanguíneas (merozoitos) aparecen dentro de los glóbulos rojos algunos días después de la infección y pueden permanecer durante un lapso de tiempo variable. La detección de la parasitemia mediante observación microscópica de extendidos de sangre coloreados, es la manera más habitual de diagnóstico. Las pruebas moleculares, además de tener mayor sensibilidad, resultan necesarias para la diferenciación específica del agente.

El presente trabajo -que se constituye como un preliminar del trabajo de tesis doctoral de uno de los autores (D.F.E.)-, resume la información diagnóstica y epidemiológica de la piroplasmosis canina en la zona sur del conurbano bonaerense durante el período 2003 – 2014.

Materiales y métodos Se evaluaron los datos obtenidos de los hemogramas procesados en el Laboratorio DIAP, provenientes de muestras de sangre de caninos de la zona sur del conurbano bonaerense. Las muestras fueron remitidas con diversos fines diagnósticos por profesionales de la zona. Se realizó: (1) detección microscópica de merozoitos de piroplasmas (parasitemia expresada en % de eritrocitos parasitados); (2) registro de alteraciones hematológicas en pacientes infectados; (3) identificación molecular por *nested* PCR-RLFP y PCR- secuenciación en perros parasitéticos; (4) diagnóstico molecular en perros no parasitéticos al microscopio (n=514); (5) estudio de la variación anual y estacional; y (6) análisis de factores de riesgo.

Resultados En el período comprendido entre octubre de 2003 y mayo de 2014 se evaluaron 120567 hemogramas de perro. La prevalencia general obtenida mediante microscopía en el área de estudio fue del 0,25% (300/120567). La parasitemia varió entre 0,01% y 30%, aunque el 90% de los casos tuvo 2% o menos. Se presentó anemia (Hematocrito <37%) en 182

casos (60,7%); de los cuales 61 (20,3%) tuvieron anemia de moderada a grave (Hto. <20%). Hubo leucopenia (<6000 leucocitos/µl) en 94 pacientes (31,3%) y leucocitosis (>18000/µl) en 35 casos (11,7%). La amplificación parcial de gen 18S ARNr con *primers* BT mediante *nested*-PCR evidenció un producto de amplificación de aprox. 800 pares de bases en las muestras de sangre de los 201 perros parasitéticos que pudieron ser estudiados con esta prueba. Se realizó el corte con enzimas de restricción HinfI, BslI y HindII (RFLP) y se observó el patrón característico de la especie *B. vogeli* en 199 de las 201 muestras. El producto de PCR de alrededor del 10% de estas muestras se purificó y remitió a un centro de referencia para su secuenciación. Las secuencias consenso obtenidas mostraron 99-100% de identidad con la misma especie mediante BLAST, comparado con otras secuencias disponibles en el GenBank. En los restantes 2 animales se observó un patrón de corte y secuenciación compatibles con *R. vitalii*; uno de la ciudad de Lanús y el otro de Florencio Varela. En ambos casos los perros habían sido recogidos de la calle y no pudo obtenerse la información completa sobre su procedencia. De las 514 muestras de perros no parasitéticos al microscopio, 4 (0,77%) resultaron positivos a *B. vogeli* mediante pruebas moleculares; 3 de ellos se encontraban coinfectados con *Hepatozoon*. La prevalencia anual durante el período de estudio mostró un aumento muy significativo (P<0.001) que varió de 0,10% en 2003 a 0,32% en 2013. Se observó un patrón estacional muy estable con picos de prevalencia de casi el 1% durante la primavera y cero durante el invierno. La infección fue más prevalente en machos (P<0.001) y en perros menores a un año (P<0.0001). No se encontraron diferencias significativas entre perros de raza y mestizos, entre razas de diferente tamaño o con diferente longitud de pelo. Mediante detección microscópica se presentó coinfección con *Hepatozoon* spp. en 28 casos (9,3%) y con microfilarias de *Dirofilaria* sp. en 4 (1,3%).

Discusión Nuestros resultados demuestran que la piroplasmosis canina producida por *B. vogeli* en el conurbano bonaerense se presenta de manera endémica desde hace más de 10 años. Esta especie es transmitida por *R. sanguineus*, una garrapata muy abundante en la zona durante los meses más cálidos del año. Las manifestaciones se presentan generalmente con anemia y leucocitosis o leucopenia pero en muchos casos no se observa ninguna alteración hematológica. La mayoría de los perros infectados tiene parasitemias bajas (≤ 2%). La coinfección (principalmente con *Hepatozoon* spp.) suele ser frecuente. La técnica de *nested* PCR permite aumentar la sensibilidad diagnóstica respecto de la microscopía y, junto al corte con enzimas de restricción, puede ser una herramienta importante y de costos relativamente bajos a la hora de conocer la especie involucrada. Se requiere de mayor información para saber si *R. vitalii* se presenta también en la zona de manera autóctona.

Bibliografía

- Jefferies R, Ryan UM, Irwin PJ. PCR-RFLP for the detection and differentiation of the canine piroplasm species and its use with filter paper-based technologies. *Vet Parasitol* 144:20–7, 2007.
- Eiras DF, Basabe J, Mesplet M, Schnitger L. First molecular characterization of *Babesia vogeli* in two naturally infected dogs of Buenos Aires, Argentina. *Vet Parasitol* 157:294-8, 2008.

P6- DETECCIÓN DE REACCIONES SEROLÓGICAS HACIA ANTÍGENOS INMUNODOMINANTES POR IMMUNOBLOT Y COMPARACIÓN CON INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA PARA EL DIAGNOSTICO DE NEOSPOROSIS Y TOXOPLASMOSIS EN PERROS

L De Felice ^{1*}, LM Campero ^{1,2}, MC Venturini ¹, JM Unzaga ¹

¹Laboratorio de Inmunoparasitología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP. ² CONICET.

*ldefelice@fcv.unlp.edu.ar

Introducción

Neospora caninum y *Toxoplasma gondii* son protozoarios pertenecientes al phylum Apicomplexa que producen infección en caninos, causando una variedad de signos clínicos similares para ambos parásitos, entre ellos, trastornos neurológicos los que motivan el diagnóstico serológico (Dubey y col., 2007). Estudios realizados en el Laboratorio de Inmunoparasitología, a partir de perros con signos clínicos, detectaron anticuerpos para *T. gondii* en 30,3% y para *N. caninum* en 25,6% de los sueros analizados por Inmunofluorescencia indirecta (IFI) (Venturini y col., 2008). Esta prueba es la más utilizada en nuestro medio para la detección de anticuerpos específicos en sueros de perros. La prueba de Immunoblot (IB) se usa principalmente con fines confirmatorios, ya que permite detectar determinados antígenos inmunodominantes (IDAs) de importancia diagnóstica.

Los objetivos del trabajo fueron analizar el comportamiento de los sueros de perros naturalmente expuestos frente a IDAs de *N. caninum* y *T. gondii* y evaluar la concordancia entre dicha prueba y la IFI para el diagnóstico de ambas enfermedades en caninos.

Materiales y métodos

Se seleccionaron 60 sueros de perros con signos clínicos, que fueron remitidos al LAINPA para el diagnóstico serológico de toxoplasmosis y neosporosis, por las pruebas de IFI e IB. Para la prueba de IFI se realizaron diluciones en base 2 a título final a partir de la dilución 1:25 y se consideró como resultado positivo la presencia de fluorescencia periférica completa en los taquizoítos. Para la prueba de IB, se utilizó antígeno completo sonificado de la cepa NC-1 de *N. caninum* y RH de *T. gondii* y se analizaron los sueros en una dilución de 1:100. Se consideró como resultado positivo la reacción hacia 2 o más IDAs (con movilidad relativa de 19, 29, 30, 33 y 37 kDa para *N. caninum* y de 19, 28, 30, 32 y 34 kDa para *T. gondii*).

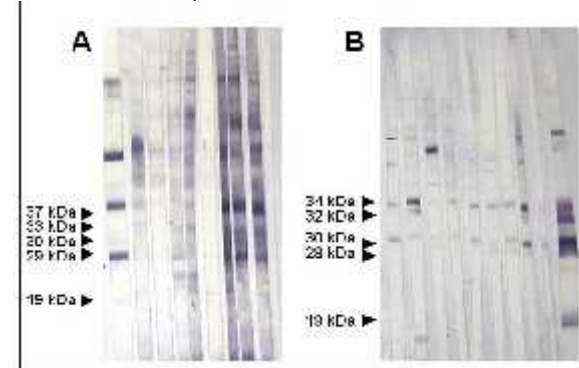
Se calculó la concordancia entre IB e IFI para el diagnóstico de neosporosis y toxoplasmosis mediante el índice kappa (k) (Epidat 3.1) considerando el grado de acuerdo como: pobre ($k=0,00$), débil ($k=0,00-0,20$), aceptable ($k=0,21-0,40$), moderada ($k=0,41-0,60$); muy buena ($k=0,61-0,80$) y excelente ($k \geq 0,81$).

Resultados

Un total de 21 sueros resultaron positivos a *N. caninum* por IB, detectándose inmunoreacción en al menos 2 IDAs (Fig. 1A). Al analizar las frecuencias de las reacciones hacia los distintos IDAs a partir de sueros seropositivos se detectó: 95% de los sueros reaccionó con los IDAs de 37 y 29 kDa, 76% con 30 kDa, 71% con 33 kDa y 43% con 17 kDa. Para *T. gondii*, 29 sueros resultaron positivos por IB al menos con 2 IDAs (Fig. 1B). A su vez, 97% de los sueros positivos reaccionó con el IDA de 34 kDa, 93% con 30 kDa, 59% con 28 kDa, 48 % con 32 kDa y 10% con 19 kDa.

La concordancia entre el IB e IFI fue muy buena para *N. caninum* ($k=0,74$) y moderada para *T. gondii* ($k=0,46$). En la **Tabla 1** se detalla los resultados serológicos para ambas pruebas. De los 13 sueros positivos a *T. gondii* por IB y negativos por IFI (título 1:50), 6 de ellos resultaron positivos a *N. caninum* en las pruebas de IB e IFI, presentando títulos serológicos elevados $\geq 1:800$. Del resto de los sueros (7), 4 presentaron título 1:25 a *T. gondii* por IFI.

Figura 1. Detección de IDAs de *N. caninum* (A) y *T. gondii* (B) en sueros caninos por Immunoblot



Discusión

- Los antígenos inmunodominantes de 37 y 29 kDa son los que reaccionaron con mayor frecuencia con sueros caninos positivos a *N. caninum* por IB. Similares resultados fueron hallados en trabajos previos en el país para el diagnóstico de neosporosis en bovinos y búfalos por IB (Campero y col., 2012; 2015).
 - Los antígenos inmunodominantes de 34 y 30 kDa fueron reconocidos por el mayor porcentaje de sueros positivos a *T. gondii* por IB. Este resultado coincide con trabajos previos para el diagnóstico de toxoplasmosis en cerdos (Paridini y col., 2012) y cabras (Gos y col., 2015) en la región.
 - En el caso de los sueros con títulos altos a *N. caninum*, positivos a *T. gondii* por IB pero negativos por IFI, podría relacionarse con la reacción inespecífica hacia epitopes de *T. gondii* de los anticuerpos anti- *N. caninum* (Silva y col., 2007), teniendo en cuenta la proximidad filogenética entre ambas especies de protozoos. Estos resultados afectaron la concordancia entre la IFI e IB para *T. gondii*.

Bibliografía

Campero LM y col. Evaluation and comparison of serological methods for the detection of bovine neosporosis in Argentina. Rev Argent Microbiol. 2015;295-301.
 Campero LM y col. Immunodominant antigens of *Neospora caninum* in experimentally infected water buffaloes (*Bubalus bubalis*). Apicomplexa in farm animals. International meeting. Lisboa. 2012.
 Gos ML y col. Identificación de antígenos inmunodominantes para la confirmación del diagnóstico de toxoplasmosis en caprino. XXVII Reunión anual, SAP. 2015.
 Dubey JP y col. Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. Clin. Microbiol. Rev. 2007. 20:323-367.
 Paridini L y col. Evaluation of an in-house TgSAG1 (P30) IgG ELISA for diagnosis of naturally acquired *Toxoplasma gondii* infection in pigs. Veterinary Parasitology. 2012. 189:204-210.
 Silva DA y col. Evaluation of serological tests for the diagnosis of *Neospora caninum* infection in dogs: optimization of cut off titers and inhibition studies of cross-reactivity with *Toxoplasma gondii*. Vet Parasitol. 2007.143:234-244.
 Venturini MC y col. Neosporosis y toxoplasmosis en perros con signos clínicos en diez años de diagnóstico. AAVLD. 2008.

Tabla 1. Serología a IFI e IB para *N. caninum* (NC, izquierda) y *T. gondii* (TG, derecha).

IB NC (≥2 IDAs)				IB TG (≥2 IDAs)			
	Pos (+)	Neg (-)	Total		Pos (+)	Neg (-)	Total
IFI NC (1:50)				IFI TG (1:50)			
Pos (+)	18	3	21	Pos (+)	16	3	19
Neg (-)	3	36	39	Neg (-)	13	28	41
Total	21	39	60	Total	29	31	60

P7- DESARROLLO DE UNA PCR SEMIANIDADA DÚPLEX PARA LA DETECCIÓN DE ADN DE *Sarcocystis aucheniae* EN MUESTRAS DE SANGRE DE LLAMA

C. Decker Franco^{1,2}, S. Romero³, A. Ferrari^{2,4}, R. Mamani⁵, L. Schnittger^{1,2}, M. Florin-Christensen^{1,2}

¹Laboratorio de Patobiología, Centro de Investigaciones en Ciencias Veterinarias y Agronómicas (CICVyA), INTA-Castelar, Hurlingham, Argentina; ²CONICET, Ciudad de Buenos Aires, Argentina; ³Instituto de Investigación y Desarrollo Tecnológico para la Agricultura Familiar (IPAF) Región NOA, Hornillos, Prov. Jujuy, Argentina; ⁴ Instituto de Química y Fisicoquímica Biológica (Iquifib, Conicet-UBA), Buenos Aires, Argentina; ⁵Facultad de Ciencias Agrarias – Universidad Nacional de Jujuy, San Salvador de Jujuy, Jujuy, Argentina. E-mail: decker.cecilia@inta.gob.ar

Introducción: *Sarcocystis aucheniae* es un protozoo intracelular obligado que, en camélidos sudamericanos (CS), produce la parasitosis denominada sarcocistiosis (Carletti et al., 2013). Este parásito presenta un ciclo de vida indirecto ya que requiere de dos hospedadores, uno definitivo (cánido), donde el parásito desarrolla su estadio sexual, y otro intermediario (camélido sudamericano), donde el parásito desarrolla su estadio asexual.

La sarcocistiosis de CS domésticos da lugar a la formación de quistes macroscópicos (1-5 mm) similares a granos de arroz en los músculos de estos animales. El consumo de carne infectada, cruda o insuficientemente cocida, puede producir en el hombre un cuadro de gastroenteritis que cursa con náuseas, diarreas y cólicos. Además, los quistes dan un aspecto desagradable a la carne que conduce a su desvaloración y/o decomiso, por lo que tiene un impacto negativo para las economías que dependen de este tipo de ganado. Para ayudar al control de esta parasitosis, es importante contar con métodos de detección de las infecciones previo a la faena. En un trabajo anterior, demostramos que es posible detectar al parásito en sangre de CS mediante PCR (Martin et al., 2016). El objetivo del presente trabajo fue el desarrollo de un esquema mejorado de PCR con respecto al trabajo antes citado, para detectar simultáneamente ADN del parásito y del hospedador en muestras de sangre, con alta especificidad y sensibilidad. Asimismo, se propuso aplicar este ensayo a un estudio epidemiológico preliminar en dos regiones de la Puna Argentina productoras de CS.

Materiales y Métodos: Se diseñó una PCR semianidada dúplex utilizando como secuencias blanco regiones específicas del gen 18S ARNr de *S. aucheniae* y el gen 16S ARNr mitocondrial de llama. El ensayo se puso a punto con muestras de ADN extraídas de quistes del parásito y músculo de llama. Luego, fue aplicado a alícuotas de sangre de llama a las que se agregaron distintas cantidades conocidas de bradizoitos de *S. aucheniae*. Finalmente, se utilizó este ensayo para detectar infecciones por este parásito en un total de 158 muestras de ADN extraído de sangre de llamas de las provincias de Catamarca y Jujuy, mediante un kit comercial.

Los resultados obtenidos fueron tratados estadísticamente mediante el test Chi-cuadrado.

Resultados: Se obtuvieron fragmentos finales de ADN correspondiente a los tamaños esperados tanto para el parásito como para el hospedador (583 y 257 pb, respectivamente). En el ensayo de sensibilidad se logró alcanzar un límite inferior de detección de 0,76 parásitos/ml de sangre. De las 158 muestras de campo analizadas, 21.52 % resultaron positivas para *S. aucheniae*. El análisis estadístico no mostró diferencias significativas en cuanto a edad de los animales, sexo y provincia de muestreo.

Discusión: El método fue altamente sensible y específico, y aplicado con éxito a muestras de sangre de llamas de Argentina. Si bien el análisis estadístico no mostró diferencias significativas en cuanto a edad, sexo y procedencia de los animales, es necesario analizar mayor cantidad de muestras para poder hacer un relevamiento más exhaustivo de infecciones por este parásito en Argentina y países vecinos y, así conocer mejor la situación epidemiológica de la sarcocistiosis de CS.

Agradecimientos: Este trabajo fue financiado con subsidios de INTA (PRET SALJU1232204) y MINCyT (PICT 2014-3747)

Bibliografía:

- Carletti, T., Martin, M., Romero, S., Morrison, D. A., Marcoppido, G., Florin-Christensen, M., Schnittger, L. 2013. Molecular Identification of *Sarcocystis aucheniae* as the macrocyst-forming parasite of llamas. *Veterinary Parasitology*. 198, 396-400.
- Martin, M., Decker, C., Romero, S., Carletti, T., Schnittger, L., Florin-Christensen, M. 2016. Molecular detection of *Sarcocystis aucheniae* in the blood of llamas from Argentina. *Rev. Argent. Microbiol.* 2016, en prensa.

P8- EVIDENCIAS MORFOLOGICAS Y MOLECULARES SOBRE UNA NUEVA ESPECIE DE DIROFILARIA EN PERROS DEL NORTE DE LA PATAGONIA ARGENTINA

D. Vezzani^{1,2}, G. Moré^{2,3}, A. Varni⁴, D.F. Eiras^{3,5}

¹Ecosistemas, Facultad de Cs Exactas, UNICEN, Tandil, Prov. de Buenos Aires.

²Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas.

³Laboratorio de Inmunoparasitología, Facultad de Cs Veterinarias, UNLP, La Plata, Prov. de Buenos Aires.

⁴Laboratorio LAVAC, Neuquén, Prov. de Neuquén.

⁵Laboratorio DIAP, Banfield, Prov. de Buenos Aires.

Autor responsable: Diego Eiras, bpleiras@gmail.com

Introducción

El género *Dirofilaria* (Orden Spirurida, Familia Onchocercidae) actualmente consiste en 27 especies válidas y 15 cuestionables. En América, *Dirofilaria immitis* es el responsable indiscutido tanto de la dirofilariasis canina como de la dirofilariasis pulmonar humana. Sin embargo, al menos otras 11 especies del género están bien documentadas en fauna silvestre del continente: *D. feitasi*, *D. lutrae*, *D. cancrivori*, *D. acutuscula*, *D. macrodemos*, *D. panamensis*, *D. subdermata*, *D. tenius*, *D. ursi*, *D. striata*, y *D. spectans*.

En Argentina, la dirofilariasis canina por *D. immitis* se extiende en 11 provincias: Salta, Formosa, Chaco, Misiones, Corrientes, Entre Ríos, Santa Fe, Santiago del Estero, Córdoba, Mendoza y Buenos Aires. Ninguna otra especie del género ha sido confirmada hasta el presente en nuestro país.

El objetivo de este trabajo es reportar los hallazgos microscópicos y moleculares sobre una especie del género *Dirofilaria*, distinta a *D. immitis*, en perros de la ciudad de Neuquén.

Materiales y Métodos

Durante 2011-2013 se analizaron muestras de sangre correspondientes a 8 perros microfilaremicos de la ciudad de Neuquén. Se realizó un test inmunocromatográfico para la detección de antígeno específico de *D. immitis*; mediciones morfológicas de las microfilarias recuperadas del Test de Knott modificado y extracción de ADN para la realización de PCR seguido de secuenciación de 2 *targets* diferentes. Una de las técnicas amplifica fragmentos de las subunidades ribosomales 5.8S-ITS2-28S de diferentes filáridos (Panfilaria) y la otra amplifica un fragmento del gen de la ciclooxygenasa I mitocondrial (COI).

Resultados

Los 8 perros resultaron negativos a *D. immitis* por inmunocromatografía. En los estudios morfométricos de las microfilarias se obtuvo una media de 370 micras de largo y 7,1 micras de ancho. Todas las muestras fueron positivas a PCR. Para la PCR Panfilaria se observaron fragmentos de un tamaño intermedio a los esperados para *D. immitis* (542 pares de bases) y *D. repens* (484 pb). Se obtuvieron un total de 7 secuencias (5 de PCR panfilaria y 2 de COI). Las secuencias se correspondieron con muestras de 5 animales y presentaron una elevada homología entre ellas (mayor al 99%). Sin embargo, todas las secuencias mostraron homologías inferiores al 95% con secuencias de filáridos reportados en el GenBank. La baja homología de secuencia indicaría que las microfilarias halladas no se corresponden con *D. immitis* ni *D. repens*.

Discusión

Las mediciones morfológicas de las microfilarias encontradas registraron valores muy lejanos a *D. immitis* (≈300 micras de largo). Además, los resultados de la inmunocromatografía negativos junto a la secuenciación obtenida, indican claramente que la especie de filárido presente en los perros estudiados no es *D. immitis*. La baja homología de secuencias observadas mediante BLAST, podría deberse a que las secuencias pertenecen a un filárido aún no descrito o a alguna especie descrita pero de la que aún no se reportaron secuencias en el GenBank.

Nuevas especies son sugeridas con cierta frecuencia. Por ejemplo, López et al. (2012) describen una potencial nueva especie en caninos de Chile, la cual es morfológica y molecularmente cercana a *D. repens*. Sin embargo, considerando el actual número de especies dudosas dentro del género, cualquier sugerencia de una nueva especie que no contemple una descripción genética, biológica y morfológica completa (que incluya microfilarias, adultos y su ubicación) podría ser prematura. Más estudios son necesarios para avanzar sobre la identificación del filárido que hemos hallado en el extremo norte de nuestra Patagonia, el cual podría o no ser el mismo recientemente descrito en Chile.

Bibliografía

- Canestri Trotti G, Pampiglione S, Rivasi F. 1997. The species of the genus *Dirofilaria* Railliet & Henry, 1911. *Parassitologia* 39: 369-374.
- Dantes-Torres F, Otranto D. 2013. *Dirofilariosis* in the Americas: a more virulent *Dirofilaria immitis*? *Parasit Vectors* 6: 288.
- López J, Valiente-Echeverría F, Carrasco M, Mercado R, Abarca K. 2012. Morphological and molecular identification of canine filariae in a semi-rural district of the metropolitan region in Chile. *Rev Chilena Infectol* 29: 248-289.
- Vezzani D, Eiras F (en prensa). Actualización sobre dirofilariasis en Argentina y el contexto en América. En: Actualizaciones sobre Mosquitos en Argentina. Eds. CM Berón, RE Campos, RM Gleiser, LM Díaz-Nieto, OD Salomón, N Schweigmann.
- Vicente JJ, Rodrigues HO, Gomes DC, Pinto RM. 1997. Nematóides do Brasil. Parte V: nematóides de mamíferos. *Rev Bras Zool* 14 (Suppl 1): 1-452.

P9- AUSENCIA DE ANTICUERPOS ESPECIFICOS EN UNA VACA INFECTADA CON *NEOSPORA CANINUM*

I Gual¹, LM Campero², YP Hecker¹, MR Leunda¹, DB Cano¹, MC Venturini³, AC Odeón⁴, DP Moore¹. gual.ignacio@inta.gob.ar

¹ INTA-CONICET, EEA Balcarce. ² Laboratorio de inmunoparasitología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata – CONICET. ³ Laboratorio de inmunoparasitología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata. ⁴ INTA, EEA Balcarce.

Introducción

El protozoo *Neospora caninum* provoca importantes pérdidas económicas en la producción bovina. Es considerado una de las principales causas de aborto bovino a nivel mundial y no existen métodos efectivos para su control. Para su diagnóstico se utiliza principalmente la serología; sin embargo, algunos estudios han reportado animales infectados seronegativos (McInnes *et al.*, 2006; Yao *et al.*, 2009; Benavides *et al.*, 2012). En el presente trabajo se describe un caso de detección de *N. caninum* en una vaca seronegativa en sucesivos muestreos.

Materiales y métodos

El hallazgo se presentó en un estudio sobre la caracterización de la parasitemia en vacas naturalmente infectadas con *Neospora caninum* (Gual *et al.*, 2016). La vaca analizada pertenecía al grupo control *seronegativo no gestante*. Durante el transcurso de la gestación se tomaron 23 de muestras de sangre con y sin anticoagulante EDTA. Para evaluar los niveles de anticuerpos para *N. caninum* se realizó inmunofluorescencia indirecta (IFI) (titulación final a partir de una dilución 1:25), ELISA indirecto (Civtest bovis *Neospora*, Hipra, Girona, España) e Immunoblot (IB) en condiciones no reductoras (dilución 1:100). Para este último, se consideró como positivo la detección de reacciones hacia 2 o más antígenos inmunodominantes de movilidad relativa de 19, 29, 30, 33 y 37 kDa. Para la detección de *N. caninum* se extrajeron leucocitos por centrifugación en gradiente de Ficoll (Ficoll-Paque PLUS, GE Healthcare, Uppsala, Suecia). Se les extrajo ADN (5 x 10⁶ leucocitos por muestra) con un kit comercial (DNeasy® Blood & Tissue Kit, QIAGEN, Austin, EE.UU.) y se realizó una PCR anidada (Buxton *et al.*, 1998). El aislamiento del parásito se realizó por cultivo celular; diez mil leucocitos por muestra, por triplicado, se sembraron en placas de 96 pocillos con células VERO y medio Earle's suplementado con 2% de suero fetal bovino. El medio fue reemplazado a las 24 hs de la siembra y luego dos veces por semana durante un período no inferior a 60 días y se observó diariamente la presencia de efecto citopático, y de parásitos asociados al mismo, bajo microscopio invertido. Se efectuó la eutanasia del animal y se realizó PCR sobre muestras de cerebro, útero y ovario.

Resultados

Todos los muestreos resultaron negativos a la presencia de anticuerpos por las pruebas de IFI, ELISA e IB. Sin embargo, 3 de las 15 muestras de leucocitos procesadas resultaron positivas a PCR y se aisló *N. caninum* en 2 de las 23 muestras

sembradas. También se detectó ADN de *N. caninum* en cerebro y útero.

Discusión

Si bien la inmunidad celular juega un rol crucial en la protección contra *N. caninum*, la detección de anticuerpos resulta de utilidad para su diagnóstico. La ausencia de anticuerpos específicos en animales infectados podría presentarse en los siguientes casos: infección reciente en la que todavía no hay producción de anticuerpos detectables, ausencia de exposición al antígeno por un tiempo prolongado, o en casos de inmunotolerancia (Yao *et al.*, 2009). También podría ocurrir que en el huésped no se detecten anticuerpos hacia taquizoítos de *N. caninum*, que es el estadio parasitario en los que se basan las técnicas utilizadas, pero que sí se produzcan anticuerpos frente a otros estadios parasitarios, como los bradizoítos (Benavides *et al.*, 2012). Para evaluar esta última hipótesis se procederá a realizar un ELISA basado en la proteína recombinante SAG4 para la detección de anticuerpos anti-bradizoítos de *N. caninum* (Benavides *et al.*, 2012). En este caso en particular los dos primeros postulados serían los menos probables ya que el parásito se detectó en leucocitos circulantes en varias oportunidades durante 120 días de seguimiento.

Bibliografía

- Benavides J, Katzer F, Maley SW, Bartley PM, Cantón G, Palarea-Albaladejo J, ... & Buxton D (2012). High rate of transplacental infection and transmission of *Neospora caninum* following experimental challenge of cattle at day 210 of gestation. *Veterinary research*, 43(1), 1.
- Buxton D, Maley SW, Wright S, Thomson KM, Rae AG & Innes EA (1998). The Pathogenesis of Experimental Neosporosis in Pregnant Sheep. *Journal of Comparative Pathology*, 118(4), 267-279.
- Gual I, Hecker YP, Leunda MR, Pereyra SB, Cano DB, Verna AE, González Altamiranda EA, Fernández E, Odeón AC & Moore DP. Parasitemia en vacas para carne infectadas naturalmente con *Neospora caninum*. 39º Congreso de la Asoc. Argentina de Producción Animal – RAPA, 19 a 21 de octubre de 2016, Tandil, Argentina. En revisión.
- McInnes LM, Ryan UM, O'Handley R, Sager H, Forshaw D & Palmer DG (2006). Diagnostic significance of *Neospora caninum* DNA detected by PCR in cattle serum. *Veterinary parasitology*, 142(3), 207-213.
- Yao L, Yang N, Liu Q, Wang M, Zhang W, Qian WF, ... & Ding J (2009). Detection of *Neospora caninum* in aborted bovine fetuses and dam blood samples by nested PCR and ELISA and seroprevalence in Beijing and Tianjin, China. *Parasitology*, 136(11), 1251-1256.

P 10- DIAGNÓSTICO DE ENDOPARASITOS EN BÚFALOS (*Bubalus bubalis*); EN LAS CUATRO ESTACIONES ANUALES, EN TRES ESTABLECIMIENTOS DE LAS PROVINCIAS DE CORRIENTES Y UNO DEL CHACO.

J. D. Alvarez¹; T. Rignonatto¹; E. I. Martínez¹; O. Racioppi¹; S. E. Ramirez².

1: Docentes de la Cátedra de Enfermedades Parasitarias de la Facultad de Ciencias Veterinarias – UNNE.

2: Becario CIN. Cátedra Enfermedades Parasitarias de la Facultad de Ciencias Veterinarias – UNNE.

E-Mail: parasito@vet.unne.edu.ar

En la Argentina las publicaciones referidas a la epidemiología de los endoparásitos son escasas. Las provincias de Corrientes y Formosa concentran el 90% de las cabezas bubalinas del país que son aproximadamente 100.000 cabezas en 20 provincias.

Los endoparásitos que afectan a los rumiantes en producción pueden considerarse como una de las limitantes en los sistemas desarrollados bajo condiciones de pastoreo natural. Los parásitos internos en general interfieren negativamente en los procesos digestivos; impidiendo una absorción adecuada de nutrientes, lo que afecta el desarrollo y la capacidad reproductiva de los animales infestados. Los búfalos son considerados susceptibles a estas noxas. Es por ello que avanzamos en este trabajo con el objeto de determinar la presencia de los agentes causales de endoparásitos en búfalos de diferentes categorías en las cuatro estaciones anuales, en establecimientos ubicados en dos Provincias del Nordeste Argentino. (Estado de avance).

Materiales y Métodos: se seleccionaron 4 establecimientos ganaderos en diferentes departamentos (tres en la zona noroeste de la provincia de Corrientes y uno en el sureste de la provincia del Chaco).

Los animales muestreados fueron agrupados en categoría Adultos y Bucerros (menores a ocho meses).

Se trabajó durante el año 2015 en otoño (n=62), invierno (n=107), primavera (n=43) y en el año 2016 en verano (n=61).

Para el análisis de parásitos internos se obtuvieron muestras de materia fecal a las cuales se les realizó el diagnóstico coproparasitológico a través de técnicas cualitativas.

Los métodos utilizados fueron Willis para la detección de huevos de nematodos, cestodos (Flia. Anoplocephalidae) y ooquistes de coccidios. Dennis Stone Swanson para huevos de Trematodos.

Resultados:

Se observó una dinámica poblacional variada con respecto a los parásitos internos evaluando 273 animales en las cuatro estaciones anuales.

En otoño se evaluaron 62 búfalos, 46 adultos y 16 bucerros, de los cuales el 27% (17/62) fue positivo a la presencia de huevos de parásitos internos. Búfalos parasitados adultos fueron solo 7 (15%) y 10 (63%) de los bucerros. Los géneros de parásitos encontrados con mayor frecuencia fueron los de la gastroenteritis verminosa (GEV), luego coccidios, *Moniezia sp.* y *Fasciola hepatica* con 15, 3, 1 y 1 muestras positivas correspondientemente.

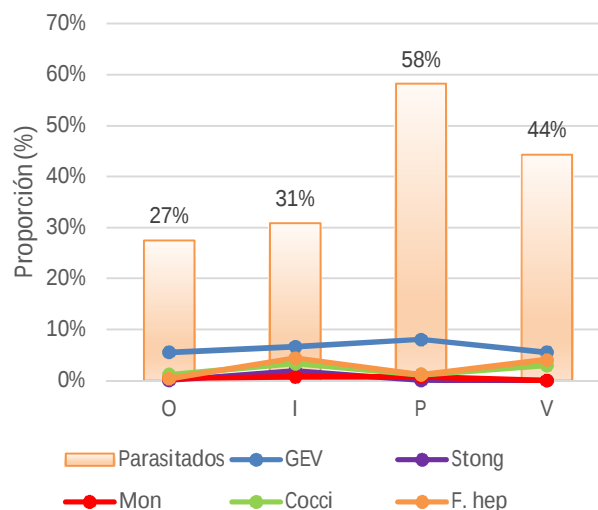
En invierno del 2015, se evaluaron 107 búfalos, 84 adultos y 23 bucerros, de los cuales el 31% (33/107) fue positivo a la presencia de huevos de parásitos internos. Búfalos parasitados adultos fueron 17 (20%) adultos y 16 (70%) bucerros. Los géneros de parásitos encontrados con mayor frecuencia fueron los de la gastroenteritis verminosa (GEV) afectando mayoritariamente a los bucerros, seguidos por *Fasciola hepatica*, coccidios, la aparición de muestras positivas a *Strongyloides sp.* y *Moniezia sp.* con 18, 12, 9, 5 y 2 muestras positivas correspondientemente.

En primavera del 2015, se evaluaron 43 búfalos, 28 adultos y 15 bucerros, el 58% (25/43) fue positivo a la presencia de huevos de parásitos internos. Búfalos parasitados adultos fueron 28 (36%) y bucerros 15 (100%). Los géneros de parásitos encontrados con mayor frecuencia fueron los de la gastroenteritis verminosa (GEV) afectando mayoritariamente a los bucerros, seguidos por *Fasciola hepatica* y coccidios y luego *Moniezia sp.* con 22, 3, 3 y 2 muestras positivas correspondientemente.

En verano del 2016, se evaluaron 61 búfalos, todos adultos, en el 44% (27/61) de las muestras se encontró la presencia de huevos de parásitos internos. Los géneros de parásitos encontrados con mayor frecuencia fueron los de la gastroenteritis verminosa (GEV), seguidos por *Fasciola hepatica* y coccidios con 15, 11 y 8 muestras positivas correspondientemente.

En la siguiente tabla se diagrama la proporción de animales positivos a parásitos internos en las cuatro estaciones representadas por las barras y la dinámica poblacional de los géneros parasitarios observados en las distintas estaciones.

Porcentaje de búfalos positivos a parásitos internos y dinámica poblacional de los diferentes géneros



Discusión:

La estación donde se observó la mayor proporción de animales con parásitos internos fue en primavera.

En el invierno, es cuando se evidenció un aumento de la gran mayoría de los géneros parasitarios estudiados, coincidentes con lo mencionado por Zava, M. (2011) salvo GEV que tuvo su pico máximo en primavera.

Los géneros que se presentaron con mayor frecuencia en todas las estaciones fueron los de la GEV, afectando a bucerros principalmente. Situación citada por Racioppi, O. et al. (2004).

Por los resultados obtenidos se concluye que los búfalos adultos son naturalmente más resistentes que los bucerros a la infestación de parásitos internos.

Bibliografía:

- 1-Crudeli, A. et al. 2004 "Búfalos en Argentina". Corrientes. Edit. Moglia.
- 2-Moriena, R.A; Racioppi, O.; Alvarez, J D. y Lombardero, O.+ "Fasciola hepatica y otros trematodos de los rumiantes. Prevalencia y distribución en la provincia de Corrientes." www.unne.edu.ar/home presentado en las "Comunicaciones Científicas y Tecnológicas 2002". SGCYT - UNNE.
- 3-Cordero del Campillo, M. et al. (2002) "Parasitología Veterinaria". España. Edit. Mc Graw-Hill-Interamericana de España, S.A.U.
- 4-Starke, W.A et al. (1992) "Helmintiasis Em Búfalo. II". Rev. Brasil. Parasitol. Vet., 1, 1 7-15
- 5-Zava, M. (2011) "El Búfalo Doméstico". Buenos Aires. Orientación Gráfica Editora.

P11- EVALUACIÓN DE AISLAMIENTOS DE *TRITRICHOMONAS FOETUS* SOBRE EL MODELO MURINO EN GESTACIÓN

Monteavaro, C.¹, Doumecq, M.L.¹, Cacciato, C.¹, Falcon, J.E.², Soto P.¹, Barbeito, C.³

¹Laboratorio de Microbiología Clínica y Experimental, FCV-UNCPBA. ²Becario CONICET. ³Histología y Embriología FCV-UNLP cmonteav@vet.unicen.edu.ar

INTRODUCCIÓN

La tritrichomonosis bovina es una enfermedad venérea que produce importantes pérdidas económicas a través de la disminución de terneros nacidos por año. El agente etiológico es un protozooario *Tritrichomonas foetus* (*T. foetus*). En las hembras la principal manifestación clínica es la repetición de celo por muerte embrionaria acompañado de endometritis, salpingitis, vaginitis y cervicitis (Feillesen, 1999). El mecanismo de acción patógena es la adherencia a células del tracto reproductor y posterior daño tisular. En la bibliografía se reportan distintas pruebas para determinar la virulencia de las cepas de *T. foetus*. Nuestro grupo ha trabajado con diferentes pruebas de patogenicidad (Doucmeq, et al 2012, Soto et al 2005). Sin embargo no está definido cual o cuales son las características que permiten clasificar un aislamiento más virulento que otro. A través del trabajo de reproducción experimental de tritrichomonosis en el modelo murino en gestación, hemos comprobado que tiene una presentación similar al modelo natural bovino, con pérdida de la gestación en el primer tercio (Barbeito, et al 2008). El período más importante para analizar es a los 11 días cuando finaliza la formación de la placenta. El **objetivo** es analizar los resultados de los ensayos de preñez a los 11 días en modelo murino inoculados con *T. foetus* con diferentes resultados en las pruebas de patogenicidad, considerando la persistencia de la infección intravaginal a los 35 días como parámetro de clasificación.

MATERIALES Y METODOS

Se analizaron los aislamientos provenientes de raspaje prepucial, subcultivados en medio TYM. Se realizaron las siguientes pruebas de patogenicidad: producción de absceso subcutáneo en ratón, producción de hemolisinas, adherencia a células epiteliales vaginales de ratón, adherencia y efecto citopático en células CHO y persistencia de la infección vaginal en ratones BALB/c. De los 21 aislamientos, en el presente trabajo se analizaron 3 para el ensayo de preñez., TR 57, 133, 140.

Animales de experimentación: para cada aislamiento se trabajó con 5 ratones hembra BALB/c de 8 a 10 semanas y 20 g de peso mínimo. Los mismos fueron mantenidos en armarios ventilados con regulación de luz y temperatura, agua y alimento a demanda.

Diseño experimental: Se sincronizaron los animales con 5 µg de benzoato de estradiol vehiculizado con aceite de sésamo estéril llegando a un volumen final de 100 µl por vía intramuscular. Cuarenta y ocho horas después se inoculó con dos dosis de 10 µl de una suspensión de 9×10^7 *T.foetus* /ml con un intervalo de 24 horas por vía intravaginal. Transcurridos 10 días se realiza una citología exfoliativa vaginal registrando estado del ciclo estrual y presencia del protozooario (Tf +). Se da servicio 1:1 con macho BALB/c de 12 semanas y 22 g de peso como mínimo. Diariamente se detecta la presencia de tapón mucoso, considerando este como día 0 de gestación. El lote control se compone de 5 animales con los mismos requisitos y en las mismas condiciones que el lote experimental. La estrogenización se realizó con el mismo protocolo y el apareamiento fue 1:1. A los 11 días de gestación los animales ambos lotes se eutanasiaron mediante dislocación cervical. Se realiza la necropsia

con la verificación de la preñez mediante la presencia de vesículas de 5 – 6 mm de diámetro en los cuernos uterinos (P+). Se toman muestras del tracto reproductor se colocan en formol bufferado al 10% para histopatología y un cuerno se congela a -80°C para posterior análisis de citoquinas.

RESULTADOS

En el lote control observamos vesículas de 5-6 mm de diámetro en los cuernos uterinos, demostrando que la estrogenización no tuvo efecto adverso. En el lote experimental los resultados fueron diferentes para los 3 aislamientos estudiados.

Para TR133 de 5 animales, 4 P+ de los cuales 3 Tf+. De estos últimos 2 con presencia de vesículas pequeñas de 2 mm de diámetro y el restante con preñez normal y Tf + en el cuerno uterino. Para TR 57 de los 5 animales, 3 con preñez negativa con Tf+. El resto con preñez positiva. Para TR 140 de 5 animales 4 tuvieron P+ y Tf - y un animal P- y Tf +

DISCUSION Y CONCLUSION

Los resultados obtenidos si bien son preliminares con los primeros aislamientos seleccionados en base a la persistencia de infección vaginal, podemos afirmar que el comportamiento es similar al modelo natural bovino. En los lotes experimentales se observó que en aquellos animales con presencia del protozooario, la preñez fue interrumpida o se encontró tapón mucoso lo cual significa que hubo interrupción y volvió a tener servicio ya que el macho no fue retirado de la caja (recordemos que el ciclo del ratón es de 5-6 días). En los animales que eliminaron al protozooario, la preñez fue positiva y en el caso de un aislamiento (TR133) que caracterizamos de baja patogenicidad observamos con una preñez normal y protozooario presente. Si bien el número de aislamientos ensayados es bajo podemos afirmar que no todos presentan el mismo comportamiento y que la persistencia intravaginal tal vez pueda considerarse como prueba para clasificar un aislamiento de mayor o menor patogenicidad.

BIBLIOGRAFIA

- Barbeito, C.; Woudwyk, M.; Cacciato, C.; Soto, P.; Portiansky, E.; Catena, M.; Echavarría, H.; Gimeno, E.; Monteavaro, C 2008. "*Tritrichomonas foetus*: Experimental infection in pregnant BALB/c mice". Experimental Parasitology, 120 (2):156-160
- Doucmeq M.L.; Monteavaro, C.; Soto, P. 2012. Variación del efecto citopático entre diferentes cepas de *Tritrichomonas foetus* sobre línea celulares CHO. XIX Reunión Científico Técnica de la AAVLD, CABA -
- Doucmeq, M.L.; Monteavaro, C.; Echevarría, H.; Catena, M.; Soto, P. 2008 Caracterización patogénica de cepas de *Tritrichomonas foetus* en la Provincia de Buenos Aires. XVII Reunión Científica Técnico de la AAVLD,
- Felleisen RS. 1999. Host- parasite interaction in bovine infection with *Tritrichomonas foetus*. Microbes Infect.1:807-816.
- Soto P, H.H., Monteavaro CE, Catena MC, 2005 *Experimentally induced intravaginal Tritrichomonas foetus infection in a mouse model*. Pesquisa Veterinária Brasileira 24 (4): 255-230.

P12- ESTUDIO SEROLÓGICO DE *TOXOPLASMA GONDII* Y *NEOSPORA CANINUM* EN ROEDORES SINANTRÓPICOS DE ZONAS URBANAS Y PERIURBANAS DE LA CIUDAD DE LA PLATA

A Dellarupe ^{1,2*}, B Fitte ³, MR Robles ³, G Navone ³, LM Campero ^{1,2}, MBernstein^{1, 2}; M Rambeaud, ¹, MC Venturini, ¹, JM Unzaga ¹.

¹Laboratorio de Inmunoparasitología, FCV, UNLP; ² CONICET; ³Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores, CEPAVE (CCT La Plata, CONICET-UNLP). *adellarupe@gmail.com

Introducción

La toxoplasmosis y la neosporosis, producida por los protozoos apicomplexa *Toxoplasma gondii* y *Neospora caninum*, involucran a los felinos y los cánidos como hospedadores definitivos (HD), respectivamente (1; 2). Una de las posibles fuentes de infección para los HD está dada por la ingestión de roedores que presentan quistes tisulares de *T. gondii* y *N. caninum*. Los roedores también podrían contribuir a la difusión de estas parasitosis entre los animales de granja de hábitos carnívoros u omnívoros, así como los salvajes a través del ciclo silvestre (3). Los roedores sinantrópicos en su rol de hospedadores intermediarios (HI) de *T. gondii* y *N. caninum* pueden dar cuenta de la situación sanitaria ambiental por la presencia de ooquistes de *T. gondii* y *N. caninum* respectivamente en zonas urbanas y periurbanas. El objetivo de este estudio fue evaluar la tasa de infección para toxoplasmosis y neosporosis en roedores sinantrópicos de zonas urbanas y periurbanas de la ciudad de La Plata, Pcia. de Bs. As., Argentina.

Materiales y Métodos

En el Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (CEPAVE) se obtuvieron 78 muestras de sangre de roedores sinantrópicos de zonas urbanas y periurbanas de la ciudad de La Plata: *Rattus rattus* (18), *Rattus norvegicus* (18) y *Mus musculus* (42) durante los periodos primavera-verano y otoño-invierno 2014-2015. En el Laboratorio de Inmunoparasitología FCV-UNLP (LAINPA) se procesaron las muestras de suero por inmunofluorescencia indirecta (IFI) utilizando antígeno de *T. gondii* y *N. caninum* separadamente, como se ha descrito previamente (4). Se realizaron diluciones del suero en base 2 de 1/50, 1/200 y 1/800. Como conjugado se utilizó anti-IgG anti-ratón (Sigma) y se incorporaron controles positivos y negativos de ratones.

Resultados

Del total de roedores sinantrópicos (78), 29.5% fueron positivos a *T. gondii* y 1.28% a *N. caninum*. Un 6.4% de las muestras obtenidas de *R. rattus*, 12.8% de *R. norvegicus* y 10.3% de *M. musculus* resultaron positivos a *T. gondii*; mientras que para *N. caninum* el único animal positivo correspondió a *M. musculus*.

Tabla1: Presencia de anticuerpos anti-*T. gondii* en las diferentes especies de roedores sinantrópicos. a: positivo 1/50; b: positivo 1/200; c: positivo 1/800; d: negativo.

	a	b	c	d
R. rattus	3 (16, 6%)	1 (5, 5%)	1 (5, 5%)	13 (72, 2%)
R. norvegicus	3 (16, 6%)	5 (27, 7%)	2 (11, 1%)	8 (44, 4%)
M. musculus	2 (4, 76%)	2 (4, 76%)	4 (9, 5%)	34 (80, 9%)

Tabla 2: Presencia de anticuerpos anti-*N. caninum* en las diferentes especies de roedores sinantrópicos. a: positivo 1/50; b: positivo 1/200; c: positivo 1/800; d: negativo.

	a	b	c	d
R. rattus	0	0	0	18 (100%)
R. norvegicus	0	0	0	18 (100%)
M. musculus	1 (2, 4%)	0	0	41 (97, 6%)

De los animales muestreados en primavera-verano (46) 41.3% resultaron positivos a *T. gondii*, y 2.17% positivos a *N. caninum*, de los animales muestreados en otoño-invierno (32) 40.6% resultaron positivos a *T. gondii*, mientras que todos fueron negativos a *N. caninum*. Se registraron diferentes porcentajes de las diluciones utilizadas para *T. gondii* y *N. caninum* (Tabla 1 y 2).

Conclusión y discusión

Los resultados obtenidos dan cuenta de que los animales seropositivos estuvieron en contacto con los protozoos *T. gondii* y *N. caninum* respectivamente. Los roedores sinantrópicos pueden actuar como centinelas sanitarios, reflejando la posible contaminación ambiental. En el caso de la toxoplasmosis, por tratarse de una zoonosis, cobra especial importancia por la cercanía de estos animales en el ambiente estudiado con los seres humanos. Hasta nuestro conocimiento este es el primer estudio en Argentina sobre la presencia de anticuerpos para *T. gondii* y *N. caninum* en animales sinantrópicos. Cabe tener en cuenta la importancia de estos HI, como presas de los HD respecto a la posible eliminación de ooquistes de *T. gondii* y *N. caninum* por parte de estos, como contaminantes del medio ambiente. Futuros estudios de genotipificación son necesarios para el establecer el armado de un mapa epidemiológico de *T. gondii* en el ambiente estudiado.

Bibliografía

- 1- Dubey JP. Toxoplasmosis of animals and humans. 2nd ed. Boca Raton, Florida: CRC Press (2010) [313 pp.].
- 2- Dubey JP, Schares G. Neosporosis in animals—The last five years. 2011. Veterinary Parasitology, 180: 90–108.
- 3- Macháčková T., Ajzenberg D., Žáková A, Sedláčková E. *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in wild small mammals: Seroprevalence, DNA detection and genotyping. 2016. Veterinary Parasitology, 223: 88-90.
- 4- Moré G., Pardini L., Basso W., Marín R., Bacigalupe D., Auad G., Venturini L., Venturini M.C. Seroprevalence of *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii* and *Sarcocystis* sp. in llamas (*Lama glama*) from Jujuy, Argentina. 2008. Veterinary Parasitology, 155: 158-160.

P13- EXTRACCIÓN DE ADN DE *LEISHMANIA* SPP. A PARTIR DE SANGRE ENTERA CANINA: NUEVO METODO SENSIBLE DE BAJO COSTO

M.E. Ascencio^{1,2,3}, M. Florin-Christensen^{1,2,3}, L. Schnittger^{1,2,3}, A.E. Rodríguez²;

¹ Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

² Instituto de Patobiología, CICVyA, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA).

³ Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad de Morón.

Autor responsable: rodriguez.anabel@inta.gob.ar

INTRODUCCIÓN: Las leishmaniasis son un grupo de enfermedades zoonóticas causadas por protozoos del género *Leishmania* (Trypanosomatidae), parásitos intracelulares obligados, que producen lesiones a niveles cutáneo, mucocutáneo y visceral, pudiendo esta ser letal y siendo el canino su principal reservorio. Son endémicas en más de 90 países y se estiman unos 2 millones de nuevos casos por año (Medina and Lucero 2014; MSAL 2010). Los métodos de rutina utilizados para el diagnóstico de las leishmaniasis son: (I) el diagnóstico parasitológico, (II) y el diagnóstico serológico. Ambos métodos son sensibles pero el primero depende de la habilidad del operario; mientras que el segundo puede presentar reacciones cruzadas en presencia de una segunda infección bacteriana o parasitaria (Lemos et al. 2008). El Ministerio de Salud de la Nación recomienda complementar estos estudios con el diagnóstico molecular por PCR; que se basa, al igual que el diagnóstico parasitológico, en muestras de médula ósea, lo cual resulta en un procedimiento invasivo y doloroso para el animal. El objetivo de este trabajo es desarrollar un método alternativo de extracción de ADN de *Leishmania* spp. a partir de muestras de sangre canina utilizando la resina Chelex-100, evaluando su sensibilidad y estabilidad comparada con otros métodos ampliamente utilizados (fenol cloroformo y kit comercial) y el almacenamiento en presencia y/o ausencia de un agente caotrópico. La extracción de ADN con esta resina tiene un costo 10 veces menor que el del kit comercial y no utiliza solventes orgánicos que ponen en riesgo la salud del operario.

MATERIALES Y MÉTODOS: Muestra. Se utilizó una muestra de sangre canina infectada con *Leishmania infantum*, diagnosticada como positiva por parasitología (EEA INTA Mercedes- Corrientes). **Extracciones de ADN. Kit comercial:** se utilizó el kit DNeasy Blood & Tissue (QIAGEN) según las instrucciones del fabricante. **Fenol Cloroformo:** Se aplicó el método estándar de extracción de ADN con fenol-cloroformo-alcohol isoamílico (25:24:1) (Sambrook and Green 2012). **Chelex-100:** se tomó una alícuota de 20 µl de sangre y se agregaron 200 µl de suspensión de Chelex-100® (BIORAD) (5%); se homogeneizó en vortex durante 5 segundos y se incubó a 100°C durante 10'; se centrifugó durante 15' a 13.600 × g a temperatura ambiente. Se separó el sobrenadante para ser utilizado como templado de PCR. **PCR:** Para la amplificación del ADN se utilizaron cebadores específicos para *Leishmania* spp. (13A/13B) siguiendo un protocolo descripto previamente (Ashford et al. 1995). **Comparación de sensibilidad entre métodos de extracción.** Se realizaron diluciones seriadas al tercio de las muestras de ADN extraídas con cada uno de los métodos y se amplificaron por PCR. Se registró la máxima dilución en la que se observaron productos de amplificación. **Conservación de muestras de sangre y ADN a -20°C.** Se almacenaron a -20°C alícuotas de sangre y de ADN extraído por el método Chelex-100 y kit comercial, durante períodos de tiempo de 30, 60 y 90 días. A las alícuotas de sangre se les extrajo ADN por el método Chelex-100 tras cada período y se evaluó el nivel de detección por PCR. Para las alícuotas de ADN se aplicó además, un ciclo de congelado/descongelado en cada período. En todos los casos, se realizaron diluciones seriadas de las muestras al tercio. En forma paralela, se realizaron ensayos, tanto con alícuotas de sangre como de ADN, agregando un agente caotrópico (Guanidina-HCl 6M pH 10).

RESULTADOS:

Se observó amplificación por PCR del ADN extraído mediante los tres métodos con una sensibilidad similar. Respecto de la estabilidad, la detección del ADN extraído tanto con Chelex-100 como con kit disminuyó un 33 % luego de conservación a -20 °C tanto a los 60 como a los 90 días. En el caso de las muestras de sangre almacenadas a -20°C durante 90 días, el nivel de

detección luego de extracción con Chelex-100 no se modifica respecto del obtenido al inicio del ensayo (Figura 1). Los ensayos realizados en presencia de Guanidina-HCl mostraron resultados similares a los anteriores.

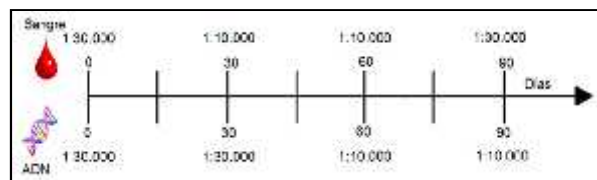


Figura 1. Conservación de muestras: Sangre y ADN a -20°C. Detección por PCR de diluciones seriadas de ADN extraído con Chelex-100 a los 0, 30, 60 y 90 días. Se muestra la dilución máxima detectada en cada caso.

CONCLUSIONES:

Estos resultados nos permiten concluir, en primer lugar, que la resina Chelex-100 constituye un método apto para la extracción de ADN de *Leishmania* spp. a partir de muestras de sangre entera canina. Debido a que la extracción por este método se lleva a cabo en un tiempo no mayor a 30 minutos, que la resina utilizada es de bajo costo y que la detección por PCR resulta similar a cuando se utiliza el kit comercial, podemos concluir que el método Chelex-100 para extracción de ADN de *Leishmania* spp. resulta una alternativa sensible, rápida y económica. Además nuestros resultados muestran que la sensibilidad de las muestras de ADN extraídas por ambos métodos se comporta de forma similar en un lapso de 90 días. Se observa que la conservación a -20°C por 3 meses, tanto de muestras de sangre como de ADN extraído por el método de Chelex-100, no presenta diferencias significativas en su nivel de detección por PCR. Así mismo, el agregado de un agente caotrópico no representaría un aporte en la estabilidad de las muestras. El método Chelex-100 para la extracción de ADN es una alternativa económica de utilidad para ser aplicada en el diagnóstico molecular veterinario. Por otra parte, la utilización de muestras de sangre, en lugar de médula ósea, para el diagnóstico resulta en una opción menos invasiva para el canino. De esta manera, se aporta a un mejor control de la enfermedad. (Subsidiado por: INTA- PNSA 1115052, UM PID 9-2015).

BIBLIOGRAFÍA:

- Ashford et al. 1995. "Comparison of the Polymerase Chain Reaction and Serology for the Detection of Canine Visceral Leishmaniasis". *Am J Trop Med Hyg.* 53(3):251-5.
- Lemos et al. 2008. "Canine Visceral Leishmaniasis: Performance of a Rapid Diagnostic Test (Kalazar Detect) in Dogs with and without Signs of the Disease". *Acta trop* 107(2):205-7.
- Medina and Lucero 2014. "Aplicación de herramientas moleculares en el diagnóstico y caracterización de leishmania spp. en áreas endémicas de Chaco, Argentina" *Rev. argent. zoonosis enferm. infecc. emerg.* 9(2):51-3.
- MSAL 2010. Leishmaniasis Visceral - *Guía de Salud* N° 5.
- Sambrook and Green, 2012. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. 4th ed. Cold Spring Harbor, NY.

P14- DIAGNOSTICO MOLECULAR POR PCR DE *TRYPANOSOMA EVANSI* EN EQUINOS DE LA PROVINCIA DE FORMOSA

E.F. Dubois¹, M.S. Paoletta², A.S. Florentin¹, A.M. Russo¹, C.M. Monzón¹, S.E. Wilkowsky²

¹Centro de Investigación y Transferencia (CIT Formosa) CONICET. UNAF, Gobierno de la provincia de Formosa.

²Laboratorio de Hemoparásitos, Instituto de Biotecnología, CICVyA, INTA Castelar, Buenos Aires. fernando_dubois@hotmail.com

Introducción.

Surra es una enfermedad animal que ocurre en África, Asia y América Latina, causada por *Trypanosoma evansi*. Este flagelado se transmite mecánicamente por diferentes moscas hematófagas, tales como *Tabanidae* y *Stomoxys*, así como por el murciélago vampiro *Desmodus rotundus*. En Argentina se reportaron numerosos casos en la provincia de Formosa en las últimas décadas, atacando principalmente a equinos. La enfermedad se caracteriza por tener un curso agudo y crónico con fiebre intermitente, anemia, pérdida de peso, edemas, ocasionalmente trastornos locomotores y hasta la muerte de los mismos. El diagnóstico clínico de la infección por *T. evansi* sigue siendo difícil debido a que los signos son muy variados e inespecíficos. El diagnóstico parasitológico como la microscopía directa y las técnicas de concentración tienen una limitada sensibilidad debido a que los niveles de parasitemia son fluctuantes, en particular durante las fases crónicas de la infección. El diagnóstico serológico por medio de la detección de anticuerpos puede ser limitado a la hora de diferenciar animales enfermos de aquellos que hayan resuelto la infección a causa de que la prueba puede seguir detectando anticuerpos por períodos prolongados después de un tratamiento exitoso. Por todo lo dicho es que resulta imprescindible contar con una herramienta de diagnóstico adecuada para establecer la situación epidemiológica del *T. evansi* y aplicar medidas de control estratégicas. El objetivo de este trabajo fue poner a punto una PCR para *T. evansi* como prueba diagnóstica.

Materiales y métodos.

Se tomaron 10 ml de sangre de vena yugular de 31 equinos de establecimientos de cría extensiva ubicados a 80 km de la capital de la provincia de Formosa y se procedieron a guardarlas en tubos con y sin EDTA. Todas las muestras fueron evaluadas para determinar la presencia del parásito con la técnica de centrifugación del microhematocrito entre 12 y 24 hs de la extracción de las muestras (1). A partir del suero se realizó la técnica de ELISA indirecto para la detección de anticuerpos anti-*T. evansi*, descrita por Monzón C.M. (2). Para la extracción de ADN genómico de sangre entera se utilizó el método de lisis con detergente (3). Para el diagnóstico por PCR se utilizaron los primers descritos por Konnai (4). Los primers utilizados fueron 5'-CTGAAGAGGTTGGAAATGGAGAAG-3' (FORWARD) y 5'-GTTTCGGTGGTTCTGTTGTTGTTA-3' (REVERSE) y generan un amplicon de 151 pares de bases. Los primers se unen a una región conservada de la glicoproteína variable de superficie (VSG) de *T. evansi*. Para la reacción de PCR se utilizaron las condiciones de ciclado descritas por el autor. Se utilizaron controles positivos y negativos adecuados. Los productos de la reacción fueron analizados en un gel de agarosa al 2% teñido con bromuro de etidio. En dos de las muestras positivas a la PCR-VSG se amplificó además por PCR una región

hipervariable del gen 18SrRNA para su identificación por secuenciación. Con las secuencias obtenidas se realizó la búsqueda por BLASTn contra la base de datos de NCBI.

Resultados.

De los 31 equinos analizados, 10 (32% del total) resultaron positivos para la observación directa por microhematocrito mientras que, 7 muestras (22% del total) resultaron positivas para la PCR-VSG. El ELISA detectó anticuerpos en 23 muestras (74% del total), de las cuales 6 fueron positivas por microhematocrito. Las dos muestras secuenciadas mostraron 100% de identidad al fragmento del gen 18SrRNA de *T. evansi* luego de la búsqueda por BLASTn

Discusión.

La PCR-VSG resultó adecuada para la amplificación de aislamientos locales de *T. evansi*, lo que indica la conservación de las regiones blanco de los primers en las muestras analizadas. En función de los resultados, las diferencias de sensibilidad entre el microhematocrito y la PCR-VSG pueden deberse a un bajo rendimiento en el método de extracción de sangre entera utilizado, el cual podría ser mejorado extrayendo el ADN de la capa leucocitaria luego de centrifugar la sangre. La prueba ELISA a pesar de que indica únicamente la presencia de anticuerpos, aporta información epidemiológica indicando que la enfermedad estaría afectando a gran parte de los animales. Este trabajo constituye una primera aproximación al diagnóstico molecular de la presencia de tripanosomas equinos en Argentina. Estudios posteriores permitirán optimizar la PCR-VSG y determinar la distribución de *T. evansi* en la región.

Bibliografía.

1. Woo, PTK, 1970. The haematocrit centrifuge technique for the diagnosis of African trypanosomiasis. Acta Trop. 27: 384-386.
2. Monzón C.M. 2000. Validación de una prueba inmunoenzimática indirecta para la detección de anticuerpos anti-*Trypanosoma evansi* en equinos de Argentina. Rev. sci. tech. Off. int. Epiz., 19 (3), 810-818.
3. Higuchi R. 1989. Simple and rapid preparation of samples for PCR. In: Erlich HA (ed). PCR technology principles and applications for DNA amplification, pp. 31-38. Stockton Press, New York
4. Konnai, S., Mekata, H., Mingala, C.N., Abes, N.S., Gutierrez, C.A., Herrera, J.R., Dargantes, A.P., Witola, W.H., Cruz, L.C., Inoue, N., Onuma, M., Ohashi, K., 2009. Development and application of a quantitative real-time PCR for the diagnosis of Surra in water buffaloes. Infect. Genet. Evol. 9, 449-452.

P15- DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE *TRYPANOSOMA VIVAX* EN PEQUEÑOS RUMIANTES DEL ESTE DE LA PROVINCIA DE FORMOSA

AS Florentin¹, MS Paoletta², EF Dubois¹, CM Monzón¹, SE Wilkowsky²

¹ Centro de Investigaciones y Transferencia de Formosa, Ruta Nacional N° 11 km 1164. C.P. 3600, Formosa, Argentina.

² CICVyA, INTA-Castelar, De Los Reseros y Nicolás Repetto S/N –CC 25. C.P. 1408, Hurlingham, Buenos Aires, Argentina.

E-Mail: florentinas@gmail.com

Introducción

Las enfermedades parasitarias de la sangre causan importantes pérdidas económicas en áreas tropicales, subtropicales y húmedas. Las de mayor impacto negativo en la producción pecuaria son aquellas causadas por hemoflagelados de la familia Trypanosomatidae. Estos agentes son responsables de un conjunto de síndromes de diversa severidad e intensidad clínica conocidos como tripanosomiasis. Las tripanosomiasis son causadas por especies del género *Trypanosoma*.

Las especies de tripanosomas que afectan a los animales, con importancia económica en Sudamérica incluyen *T. vivax* y *T. evansi*. *T. vivax* es un hemoparásito de los rumiantes, originario de África que afecta bovinos, ovinos, caprinos, búfalos y cérvidos salvajes, ubicándose principalmente en sangre, linfa y ganglios linfáticos.

En Argentina, el parásito fue hallado por primera vez en el año 2008 en bovinos y posteriormente en búfalos, produciendo una inmensa onda epizootica que produjo numerosas muertes en las provincias de Formosa y del Chaco (Monzón et al., 2008). Hasta el momento, la presencia de estos parásitos en pequeños rumiantes no ha sido analizada en el país, lo que motivó la realización del presente trabajo.

Los medios más comunes para detectar infecciones por *T. vivax* incluyen métodos parasitológicos y serológicos. Los primeros confrontan como principal inconveniente la baja sensibilidad en la medida en que la infección se vuelve crónica o la parasitemia se mantiene en bajos niveles. Los segundos tienen la limitante de que no son capaces de diferenciar entre una infección activa o una pasada, además de que existe la posibilidad de que ocurra reacción cruzada con otras especies de tripanosomas como *T. evansi* y *T. theileri*, con los que comparte similitud antigénica.

Las técnicas de biología molecular, particularmente la reacción en cadena de la polimerasa, PCR, ha permitido revelar infecciones en animales sintomáticos o asintomáticos sin parasitemia detectable, con gran sensibilidad y especificidad.

El objetivo del presente trabajo fue comparar dos técnicas de PCR para la detección de *T. vivax* en pequeños rumiantes (ovinos y caprinos) de la provincia de Formosa, y de esta manera poder iniciar estudios epidemiológicos y de caracterización molecular en el país.

Materiales y Métodos

Se recolectaron muestras de sangre de vena yugular de 13 ovinos y 7 caprinos de diferentes sexos y edades. Los animales provenían de 2 establecimientos de pequeños productores de la localidad de Formosa, en la misma provincia. El primero se dedica a la actividad ovina y bovina, contando con 100 ovinos aproximadamente; y el segundo predio cuenta con ovinos y caprinos, de los cuales poseía, en el mes de marzo del 2016, un total de 52 ovinos y 70 caprinos, mientras que dos meses después y luego de una mortandad, se encontraron en el momento de la visita 19 ovejas y 48 caprinos. En ambos establecimientos se produjeron muertes y un porcentaje de los animales vivos mantenía un cuadro clínico febril, con mucosas pálidas y decaimiento al momento del muestreo.

Se realizó la determinación de hematocrito y la prueba del microhematocrito para la observación directa del parásito (Woo, 1969). El ADN genómico se obtuvo a partir de 400 µl de sangre con la utilización del kit de extracción INBIO - ADN PuriPrep-S. Se realizó la PCR dirigida al gen PRAC (Proline Racemase) de *T. vivax* descrita por Fikru et al. (2014). Los primers utilizados fueron: 5'CGCAAGTGGACCGTTCGCCT3' (forward) y 5'ACGCGGGGCGAACAGAAGTG3' (reverse) los que generan un amplicón de 239 bp.

Además se realizó una segunda PCR designada como CatL, descrita por Cortez et al. (2009) que amplifica secuencias correspondientes al dominio catalítico de enzimas Cathepsin L-

like (CatL-like). Este dominio está ligado a la actividad enzimática, siendo estructural y funcionalmente conservado, lo que facilita la amplificación mediante PCR de un producto de 177 bp y permite un seguro alineamiento aún cuando se comparan organismos genéticamente distantes. Los primers utilizados fueron: TviCatL1 5'GCCATCGCCAAGTACCTCGCCGA3' (forward) y el DTO155 5'TTAAAGCTTCCACGAGTTCTTGATGCCAGTA3' (reverse). En ambas PCR se utilizaron las condiciones de ciclado descritas por los autores. Se utilizaron controles positivos y negativos adecuados. Los productos obtenidos fueron analizados en gel de agarosa al 2% con Bromuro de Etidio.

Resultados

Los resultados obtenidos muestran un hematocrito promedio en las 20 muestras, de 18,85% con un valor mínimo de 6% y un valor máximo de 29%. Solamente uno de los animales alcanzó un valor normal de hematocrito (29 a 55%).

En las muestras analizadas, 11 (52,4%) resultaron positivas a la presencia del parásito durante la observación directa (OD). La PCR PRAC fue capaz de detectar 7 (33,3%) muestras positivas y la CatL 12 (57,1%).

Discusión

El promedio del valor de hematocrito del total de muestras está por debajo de lo esperado y concuerda con los signos detectados en ambos rodeos, lo que advertiría la presencia de una enfermedad anemizante en ambos establecimientos.

Las dos PCR realizadas funcionaron adecuadamente utilizando los primers y protocolos de ciclado reportados, lo que demuestra la conservación de las regiones blanco de los primers utilizados para ambos genes en cepas muy distantes geográficamente (CatL fue probada en cepas de Brasil, Colombia, Bolivia, Venezuela y de varias regiones de África; mientras que PRAC fue ajustada con cepas de Etiopía, Nigeria y Venezuela).

Por otra parte, la PCR CatL pareciera ser más sensible que la PRAC, aunque estos resultados serán validados de forma estadística con el análisis de un mayor número de muestras.

Es menester implementar métodos diagnósticos de alta sensibilidad y especificidad, que confirmen la presencia de *T. vivax* en los rodeos de pequeños rumiantes debido a las pérdidas ocasionadas en estas actividades y a los riesgos de transmisión a otras especies susceptibles.

Bibliografía

- Cortez AP, Rodrigues AC, Garcia HA, Neves L, Batista JS, Bengaly Z, Paiva F, Teixeira MMG. 2009. Cathepsin L-like genes of *Trypanosoma vivax* from Africa and South America: characterization, relationships and diagnostic implications. Mol Cell Probe, 23: 44-51.
- Fikru R, Hagos A, Rogé S, Reyna-Bello A, Gonzatti MI, Merga B, Goddeeris BM, Büscher P. 2014. A proline racemase based PCR for identification of *Trypanosoma vivax* in cattle blood. Plos One, 9: e84819.
- Monzón CM, Mancebo OA, Russo AM. 2008. Primera Descripción de *Trypanosoma vivax* en Argentina. Vet. Arg. XXV (247): 492-498.
- Woo PTK. 1969. The haematocrit centrifuge for the detection of trypanosomes in blood. Canad J of Zool, 47 (5): 921-923.

P16- ESTUDIO DE PREVALENCIA DE *HEPATOZOOM* spp. EN CANINOS DE LA CIUDAD DE JUANA KOSLAY (SAN LUIS)

JD Moyano¹ y CE Rossanigo¹

1. Facultad de Veterinaria, Univ. Católica de Cuyo (San Luis). Cátedra de Parasitología y enfermedades Parasitarias. E-mail: rossanigo.carlos@inta.gob.ar

Introducción

La hepatozoonosis canina es una enfermedad parasitaria sistémica, causada por un protozoo cosmopolita del Phylum *Apicomplexa* género *Hepatozoon* spp. Existen dos especies principales que afectan a los caninos: el *Hepatozoon americanum* (HA) y el *Hepatozoon canis* (HC) los cuales no se los puede distinguir morfológicamente. El HC es considerado el patógeno más común en las Hepatozoonosis caninas diagnosticadas. El ciclo biológico comienza cuando la garrapata vector *Rhipicephalus sanguineus* (RS), considerada el huésped definitivo dada su reproducción sexual en la misma, ingiere los macrogamontes y microgamontes presentes dentro de los monocitos y neutrófilos sanguíneos del huésped intermediario, el perro. Una vez en el intestino de la garrapata, se desarrolla la reproducción sexual dando origen a múltiples cigotos, los cuales no migran a las glándulas salivales o boca de la misma, confirmando que el perro debe ingerirla para infectarse. Dentro del perro, las formas libres de HC migran a varios tejidos corporales, dentro de los monocitos y neutrófilos, como bazo, médula ósea, pulmones, hígado y músculo y se produce en los mismos una multiplicación activa y nueva diseminación hematogena que se considera la responsable de los signos clínicos (depresión, anorexia, fiebre, mialgias generalizadas, caquexia, anemia y muerte) presentados por el paciente. La primera descripción en Argentina fue comunicada en el año 1999 en la ciudad de Buenos Aires, y en la provincia de San Luis en el año 2011. Esta comunicación tiene el objetivo determinar la tasa de prevalencia de *Hepatozoon* y la existencia de factores de riesgo asociados en los canes de la Ciudad de Juana Koslay (San Luis).

Materiales y métodos

El estudio se realizó en el periodo que comprende los meses de Noviembre de 2014 a Marzo de 2015. Con una población total aproximada de 6000 caninos, de los cuales se muestrearon 61 perros (30 machos y 31 hembras), en edades comprendidas entre los 3 meses y los 18 años, de razas variadas y mestizos, con un 95% de confianza, un 2,9% de precisión, utilizando un muestreo por conglomerado (muestreo multietápico) estratificando a la ciudad en 6 zonas. De cada animal se tomaron 2 muestras de Sangre con las que se realizaron frotis extendidos sanguíneos teñidos con May Grünwald Giemsa: una de sangre venosa central con anticoagulante (EDTA) extraída de la vena cefálica post la realización de un microhematocrito utilizando la leucoconcentración de la costra flogística para realizar el frotis (método buffy-coad), y otra de sangre periférica mediante un pequeño corte con el bisel de una aguja hipodérmica en la cara interna de la oreja del canino. Los frotis fueron observados por microscopía para detectar la presencia de gamontes en los leucocitos observados en 10 campos. Se clasificó en cada perro muestreado, la carga de garrapatas en 3 grados: Baja: cuando se encontraban hasta 5 garrapatas, Media: de 5 a 10, y alta: a más de 10. Se extrajeron especímenes de garrapatas de cada perro muestreado que fueron conservados en tubos eppendorf con alcohol 70%, para su posterior identificación. Paralelamente se

realizó una pequeña encuesta a los propietarios sobre hábitos de crianza del canino y medidas preventivas para el control de garrapatas.

Resultados

Seis caninos fueron positivos a la presencia de gamontes de *Hepatozoon* spp en sangre periférica y venosa a través de frotis (prevalencia de 9,8%). Según el muestreo establecido 4/6 zonas fueron positivas con prevalencia del 20%, 5%, 0%, 0%, 25% y 20%. La prevalencia afectó más a las hembras (67%) que a los machos (33%) y a los mestizos (83%) que a los animales de raza (17%). Solo el 33% de los positivos tenían temperatura superior a 39°C, cambios considerables en los microhematocritos, sintomatología (caquexia generalizada, mialgias, dermatitis pruriginosa, adenomegalia, anorexia, anemia) y presencia de garrapatas al momento del muestreo. Con respecto los hábitos de crianza se observó que el 67% no tenía acceso a la calle, mientras que el 33% el acceso a la calle era discontinuo. No se observó asociación estadística entre tratamientos antiparasitarios, drogas y frecuencias de uso con respecto a los Positivos a *Hepatozoon* spp. Las garrapatas extraídas fueron identificadas por el Lab. De Parasitología e Inmunología-EEA INTA Rafaela como *Rhipicephalus sanguineus* (posiblemente del linaje templado) y *Amblyomma tigrinum*.

Conclusión

Teniendo en cuenta las prevalencias encontradas en nuestro país y en el resto del mundo, el guarismo observado en este estudio es considerablemente alto, por lo que se debería tener en cuenta a esta enfermedad en los diagnósticos diferenciales de las clínicas veterinarias de la región.

Bibliografía

1. Ruíz, M. F.; Zimmermann, R. N.; Bono, M. F. y Peralta, J.C. (2010). Hepatozoonosis canina asociada a Distemper en la zona de influencia de la Facultad de Ciencias Veterinaria (UNL), Esperanza, Santa Fe (Argentina). Resúmenes XVIII Reunión Científico Técnica de la AAVLD, Mercedes (Corrientes), Resúmenes P12: pag. 144.
2. Silva, M. C.; Rodríguez, M. S.; Rosa, A.; Pereira, M. E.; Márquez, A. G. (1999). Hepatozoon canis: primer caso en Buenos Aires, Argentina. Rev. Soc. Med. Vet. 80 (6): 489-492.
3. Aubert S, Crosa P., Serrano D. y Rossanigo C. (2011). Canine Hepatozoonosis: a case in San Luis (Argentina). Proceedings 23rd International Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology. Pag. 221.
4. Linares, M. C. (2011). Hepatozoonosis Canina en la Provincia de Mendoza, Argentina. Hallazgos clínicos y de laboratorio. Tesis. Universidad Juan Agustín Maza, Fac. Cs. Veterinarias y Ambientales.

P17- PRINCIPALES GÉNEROS DE GARRAPATAS PREVALENTES EN BOVINOS DE PEQUEÑOS PRODUCTORES LECHEROS DE LA PROVINCIA DE MISIONES

H. Lovera¹; E. Sticotti¹; M. Maciá¹; M. Schneider¹; C. Rang¹; C. Motta; G.; E. Bergamo¹; J. Giraudo¹

¹Grupo Sanidad en Rumiantes – Facultad de Agronomía y Veterinaria – Universidad Nacional de Río Cuarto
hlovera@ayv.unrc.edu.ar

Las garrapatas representan uno de los grupos más importantes de los artrópodos ectoparásitos que afectan a la salud animal. Son reconocidas por su capacidad de parasitar vertebrados domésticos, silvestres y al hombre, lo cual puede resultar en problemas sanitarios para sus hospedadores. El efecto deletéreo de su alimentación obligadamente hematófaga compromete el bienestar de los animales domésticos y salvajes de diferentes maneras. Además pueden transmitir una variedad de agentes patógenos y alterar directamente la fisiología de los huéspedes a través de su saliva al procurarse el alimento. Desde los inicios de la ganadería vacuna en la Argentina fueron catalogadas como un problema de relevancia para el desarrollo de esa actividad. La mayor parte de las pérdidas económicas son ocasionadas por *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, ampliamente distribuida en el norte Argentino. En las últimas décadas, el avance de la agricultura en la zona central de Argentina, ha desplazado a la ganadería hacia el norte, no sólo a áreas favorables para el desarrollo de *Boophilus* spp., como lo es el noreste por ejemplo, sino también a zonas semiáridas como el noroeste argentino. La importancia de este trabajo es complementar la información existente de esta parasitosis en producciones bovinas; y generar datos de prevalencia en sistemas productivos de tipo familiares en la provincia de Misiones.

Objetivo. El objetivo del presente trabajo es comunicar los géneros de garrapatas prevalentes en bovinos de pequeños productores lecheros de la provincia de Misiones.

Materiales y métodos. El muestreo se llevó a cabo en agosto de 2014. Se visitaron 169 establecimientos de pequeños productores lecheros distribuidos en 14 zonas o departamentos que involucró un total de 1183 animales. La distribución de los establecimientos por zona o departamentos fue la siguiente: Zona San Pedro (20 establecimientos), Zona el Soberbio (14), Zona B. de Irigoyen (14), Zona A. del Valle (18), Zona Dos de Mayo P. Illia (16), Zona El Dorado (8), Zona Puerto Esperanza-Wanda (19), Zona L.N. Alem (8), Zona Montecarlo-El Alcazar (13), Zona Puerto Rico (11), Zona Jardín América (8), Zona San Vicente (4), Zona Colonia Aurora-Cooperativa Cahul (7), Zona Colonia Aurora Feria Franca y Cooperativa Progreso (9). Cada productor contaba entre 1 a 27 animales con un promedio de 7 bovinos. En cada establecimiento se revisaron los animales individualmente y se recolectaron los parásitos de diferentes estadios en alcohol etílico al 70%. Luego se identificaron en lupa de 20 aumentos. Para la identificación de las garrapatas del género *Amblyomma* se utilizó la clave de Guglielmone y Viñabal (1994).

Resultados. De los 169 establecimientos visitados, se detectó la presencia de garrapatas en 61 establecimientos (36,1%). Se recolectaron un total de 480 especímenes. Los géneros identificados fueron *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* y *Amblyomma* con la siguiente distribución porcentual. El 96% correspondió al género *Rhipicephalus (Boophilus)* y el 4% restante al género *Amblyomma*. En todos los casos, la especie de *Amblyomma* correspondió a *cajennense*.

Discusión. El predominio de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* es esperable dado los requerimientos ecológicos de éste ixódido y coincide con lo descrito por Guglielmone y Nava (2005). La presencia de *A. cajennense*, aunque algo más esquiva, también es descrita por Guglielmone y Nava (2006) para los dominios Amazónicos, en el que se encuentra incluida la provincia de Misiones (Paranaense).

A pesar de ser una zona altamente endémica de ixódidos, particularmente *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, el hecho que sólo un 36,1% de los establecimientos relevados hayan presentado su presencia posiblemente se deba a que al tratarse de productores con un reducido número de animales (en promedio 7 bovinos) y que en su totalidad son destinados a consumo familiar y Ferias Francas tienen un contacto casi individual con sus animales, lo cual les permite tener un control más estrecho de ésta parasitosis, que puede ser diagnosticada por el propio productor y en su mayoría realizarles tratamientos selectivos (sólo a aquellos animales que se les observan elementos adheridos). Se debería que profundizar sobre el aspecto epidemiológicos de la región ya que los propios productores reportan años con mayor abundancia de garrapatas y años con menor incidencia, posiblemente debido a variaciones climáticas.

Por otro lado la Universidad Nacional de Río Cuarto, participa con diversas instituciones de la provincia de Misiones, municipales, provinciales y nacionales, en actividades de extensión brindando asesoramiento en aspectos sanitarios a pequeños productores lecheros, relevando la presencia de tuberculosis, brucelosis, mastitis, endo y ectoparásitos, con lo cual se están llevando significativas medidas de control contra esta y otras enfermedades abordadas.

Bibliografía.

Campos Pereira M, Labruna MB, Szabó MPJ, Klafke GM. 2008. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Biología, controle e resistencia. MedVet, Sao Paulo. 169 pp.

Guglielmone, A.A.; Nava, S. 2006. Las garrapatas argentinas del género *Amblyomma* (Acari: Ixodidae): distribución y hospedadores. RIA, 35 (3): 133-153. Diciembre 2006. INTA, Argentina.

Guglielmone, A.A.; Nava, S. 2005. Las garrapatas de la familia Argasidae y de los géneros *Dermacentor*, *Haemaphysalis*, *Ixodes* y *Rhipicephalus* (Ixodidae) de la Argentina: distribución y hospedadores. RIA, 34 (2): 123-141. Agosto 2005, INTA, Argentina.

Guglielmone, A.A.; Viñabal, A.E. 1994. Claves morfológicas dicotómicas e información ecológica para la identificación de las garrapatas del género *Amblyomma* Koch, 1844 de la Argentina. RIA, 25 (1): 39-67, 1994. INTA, Argentina.

Nava, S., Mastropaolo, M., Mangold, A.J. 2012. Guía para el control de los parásitos externos en bovinos de carne del área central de la Argentina. Ficha N° 5. Garrapata común del bovino [*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*]. (bioecología, importancia sanitaria, control, resistencia a los antiparasitarios). INTA.

P18- EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA ANTIHELMINTICA EN MAJADAS DEL CENTRO-SUR DE CORDOBA (ARGENTINA). RESULTADOS PRELIMINARES

H. Lovera¹; V. Nievas²; J. Fernandez¹; E. Sticotti¹; J. Raviolo²; C. Descarga³; J. Giraudo¹

¹Grupo Sanidad en Rumiantes – Facultad de Agronomía y Veterinaria – Universidad Nacional de Río Cuarto

²Dpto. Producción Animal – Facultad de Agronomía y Veterinaria – Universidad Nacional de Río Cuarto

³Dpto. Producción Animal. I.N.T.A. – Est. Exp. Agropecuaria Marcos Juárez, Córdoba, Argentina
hlovera@ayv.unrc.edu.ar

La producción ovina en la Argentina está claramente regionalizada, involucrando a unos 80 mil productores, siendo las zonas más importantes la región patagónica. En segundo lugar encontramos la región nordeste; y le sigue la Región Pampeana abarcando la provincia de Buenos Aires, sur de Santa Fe, Córdoba, norte de La Pampa. En éste contexto, los nematodos gastrointestinales constituyen una seria limitante para la salud, la productividad y el bienestar de los herbívoros domésticos y su control depende casi exclusivamente de la administración de drogas antihelmínticas. Los últimos treinta años se han caracterizado por el desarrollo de numerosas estrategias de control de endo y ectoparásitos que afectan la producción animal, convirtiendo a los antiparasitarios. Con el advenimiento de la resistencia antihelmíntica (RA) estas drogas fueron perdiendo eficacia, estas estrategias se hicieron menos rentables, comprometiendo la propia sustentabilidad del sistema productivo. Ésta resistencia es mayor en países del hemisferio sur, en donde la producción de ovinos se realiza bajo sistemas básicamente pastoriles. En Argentina, se estima que en más del 60% de las majadas presentan poblaciones de nematodos con resistencia hacia alguno de los antihelmínticos disponibles, constituyendo un serio problema sanitario productivo en toda el área centro-norte de la Argentina.

Objetivo. Determinar la prevalencia y las características parasitológicas de la RA en majadas del centro sud de la provincia de Córdoba.

Materiales y métodos. Muestreo pre tratamiento. Se tomarán muestras de heces directamente del recto y serán conservadas en refrigeración hasta el Laboratorio de Parasitología del Departamento de Patología Animal (UNRC). Procesamiento de las muestras. Para el conteo de huevos se utilizará el método de McMaster (Roberts y O' Sullivan, 1949). De acuerdo a éstos conteos se seleccionarán un mínimo de 40 animales con los conteos más altos, siendo el límite inferior de 150 hpg. Éstos animales se distribuirán en cuatro grupos homogéneos. Test de reducción del conteo de huevos (TRCH). Tres de éstos grupos se dosificarán con los tres principios activos antihelmínticos de amplio espectro más utilizados en nuestro país: Levamisol, fenbendazol e ivermectina. Un grupo quedará como control sin tratamiento. Muestreo pos tratamiento. A los 14 días pos tratamiento, se extraerán nuevamente muestras individuales de materia fecal para conteo de hpg, y se realizarán cultivos de larvas para cada uno de los cuatro grupos experimentales para la identificación de géneros parasitarios presentes según la técnica de Henriksen y Korsholm (1983). Análisis de los resultados. El análisis de la reducción del conteo de hpg entre tratamientos se realizará a través del test propuesto por la W.A.A.V.P. (Coles y col., 1992). Se establecerá como valores de RA cuando se cumplan dos parámetros al mismo tiempo: que el porcentaje de reducción del hpg sea menor al 95%, y el límite inferior del intervalo de confianza del 95% (IC 95%) es menor a 90%.

Resultados. En el presente trabajo se tiene previsto muestrear 10 majadas del centro sud de la provincia de Córdoba. Hasta la fecha se han muestreado 3 majadas de las cuales dos de ellas tuvieron niveles de hpg aptos para realizar las evaluaciones.

Majada 1: el porcentaje de reducción del conteo de huevos (%RCH) para el Levamisol fue del 100%. El %RCH para el Fenbendazol fue del 71,9% con un IC 95% de 57%. El %RCH para Ivermectina fue del 69,8% con un IC 95% de 62%.

Majada 2: el porcentaje de reducción del conteo de huevos (%RCH) para el Levamisol fue del 100%. El %RCH para el Fenbendazol fue del 70,4% con un IC 95% de 60%. El %RCH para Ivermectina fue del 59,4% con un IC 95% de 68%.

En ambas majadas se detectó resistencia de *Haemonchus* spp. tanto para Ivermectina como para Fenbendazol. y resistencia de *Teladorsagia* spp. para Fenbendazol.

Discusión. Como se puede observar, en ambas majadas hay un nivel de eficacia bastante por debajo del 95% requerido como mínimo tanto para el Fenbendazol, como para la Ivermectina, algo más crítica ésta última droga para el caso de la majada 2.

Existen antecedentes en ambos establecimientos de administración de antihelmínticos entre 2-4 veces al año sin la realización de estudios parasitológicos previos. El Levamisol, mostró un excelente desempeño al no dejar ningún tipo de residuo parasitario pos tratamiento, coincidiendo en general con los resultados obtenidos por otros autores, aunque hay algunos reportes de resistencia al TCRH, sobre todo en las provincias de Buenos Aires, Corrientes y Chubut. Actualmente, el único antihelmíntico de amplio espectro con el cual no ha sido documentada la RA en nuestro país, es el monepantel (introducida en el mercado veterinario argentino en el 2011). Sin embargo, existe también preocupación sobre el futuro de este nuevo antihelmíntico ya que han sido informados recientemente casos de resistencia en Nueva Zelanda y Australia, luego de solo cuatro años de uso de la droga en estos países.

Bibliografía.

-Coles G.C., Jackson F., Pomroy W.E., Prichard R.K., von Samson-Himmelfstjerna G., Silvestre A., Taylor M.A., Vercruysse J. 2006. The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology* 136 (2006) 167–185.

-Coles G.C., Bauer C., Borgsteede F.H.M., Geerts S., Klei T.R., Taylor M.A., Waller P.J. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology*, 44 (1992) 35-44.

-Roberts F. H.; O' Sullivan, P.J. 1949. Methods for eggs counts and larval cultures for strongyles infesting the gastrointestinal tract of cattle. *Aust. J. Agric. Res.*, 1:99-103.

-Henriksen A. A. ; Korsholm H. 1983. A method for culture and recovery of gastrointestinal strongyle larvae. *Nord. Vet. Med.*, 35:429-430.

-Scott, I.; Pomroy, W.E.; Smith, G.; Adlington, B.; Moss, A. 2013. Lack of efficacy of monepantel against *Teladorsagia circumcincta* and *Trichostrongylus colubriformis*. *Vet. Parasitol.* 198: 166-171.

P19-ANÁLISIS DE BROTES DE BABESIOSIS Y ANAPLASMOSIS BOVINA DIAGNOSTICADOS EN EL ÁREA DE SALUD ANIMAL DEL INTA SALTA, ARGENTINA. PERÍODO 2006-2016

V. Aráoz^{1,2}; J.F. Micheloud^{1,2}; A.B. Gaido^{1†}; A.O. Salatin¹; D.H. Aguirre¹ 1- CIAP - Instituto de Investigación Animal del Chaco Semiárido - Área de Salud Animal - INTA Salta, Argentina. 2- Universidad Católica de Salta. araoz.virginia@inta.gob.ar

Introducción: Las babesiosis (*Babesia bovis*, *Babesia bigemina*) y la anaplasmosis (*Anaplasma marginale*) de los bovinos son enfermedades anemizantes que integran el complejo nosológico conocido como ‘Tristeza’, causal de importantes pérdidas económicas en rodeos de cría y lecheros del Noroeste argentino. Para esta región existe un estudio previo basado en la casuística de hemoparasitosis confirmada en laboratorio, pero acotado a rodeos lecheros de un área geográfica restringida (Valle de Lerma, Salta) (1). El presente trabajo analiza la casuística de ‘Tristeza’ bovina de una zona más amplia, diagnosticada por el Área de Salud Animal del INTA Salta durante los últimos diez años.

Materiales y Métodos: Se evaluaron 218 protocolos ingresados al Área señalada y vinculados con el complejo ‘Tristeza’, en el periodo comprendido entre enero de 2006 y mayo de 2016. El material recibido para análisis comprendió: extendidos de sangre (83,3%), sangre anticoagulada (19%), orejas y cola (15,7%), sistema nervioso central (4,6%) y otros órganos (8,8%). Los extendidos de sangre y/o improntas de órganos se colorearon con Giemsa al 10% por 30 minutos, para su posterior observación óptica con lente de inmersión. Siguiendo a Späth (1986) (1) se definió como brote a la ocurrencia en un corto periodo de tiempo de uno o más casos clínicos o muertes en un mismo establecimiento, con diagnóstico confirmado en laboratorio. Los brotes se diagnosticaron con extendidos provenientes de 589 bovinos pertenecientes a 56 establecimientos ganaderos de cuatro provincias. El total de animales involucrados en cada brote no fue establecido ya que no se hizo un seguimiento de cada uno.

Resultados: En 95 casos (43,6%) se registraron parasitemias elevadas por alguno de los hemoparásitos del complejo ‘Tristeza’, permitiendo confirmar los brotes por dichos agentes. De ese total, 41 (43,2%) se debieron a *A. marginale* (*A.m.*), 35 (36,8%) a *B. bovis* (*B.bo*), 14 (14,7%) a *B. bigemina* (*B.bi*) y cinco (5,3%) a *Babesia* sin identificación de la especie. En 9 brotes se identificaron dos agentes en forma simultánea, con 5 casos de *A.m.* + *B.bo*, 3 de *A.m.* + *B.bi* y solo uno de *B.bo* + *B.bi*. Un 64% de los brotes ocurrieron en rodeos de cría, un 22% en feedlot, 10% en tambos y 4% en sistemas de recría a campo. Considerando la principal categoría de bovinos afectada en cada brote, las vacas adultas (más de 2,5 años) lideraron la casuística con un 42% de los casos, seguidas por los novillos y novillitos (25%), vaquillonas (16%), toros (12%) y terneros (5%). El biotipo de vacuno más involucrado fueron las razas sintéticas Brangus y Braford (79 brotes), seguidas por Holando-Argentino (10 brotes) y Aberdeen Angus (seis brotes). En 53 (55,8%) de los brotes, se registró al menos un bovino muerto con un máximo de 54 óbitos en un brote de anaplasmosis (2) en Jujuy (mortalidad media = 4,7 bovinos). Además en diez de los brotes se produjeron abortos como evento asociado a los mismos. Ochenta y seis (90,5%) brotes ocurrieron en 13 departamentos de Salta, cinco brotes (5,3%) en cuatro departamentos de Jujuy y dos pares de brotes (4,2%) ocurrieron, respectivamente, en las provincias de Santiago del Estero y Chaco. Los años 2007 y 2016 fueron los de mayor casuística, con 15 y 16 brotes, respectivamente, aunque en el año 2016 se evaluaron solo cinco meses. El 79% de los brotes del periodo se produjo en la primera mitad del año (enero-junio)

con un pico en abril. Los brotes restantes (21%) ocurrieron en la segunda mitad del año, exceptuando septiembre, mes en el cual no se registraron brotes de hemoparasitosis durante todo el periodo evaluado (Fig. 1). Resultó llamativo que *B. bigemina* desapareciera de la casuística después de julio de 2012, en que se presentó por última vez.

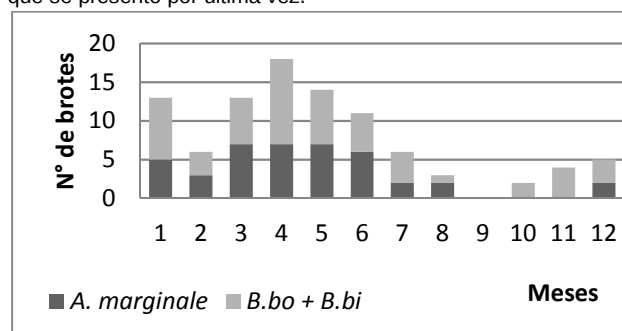


Figura 1. N° de brotes de hemoparasitosis por mes (2006-16).

Discusión y Conclusiones: La casuística de babesiosis y anaplasmosis fue similar a la analizada por Späth (1986), tanto en la distribución porcentual de los hemoparásitos responsables de los brotes como en la estacionalidad de los mismos. Dicho autor informó que, en 172 brotes, el 45% se debieron a *A.m.*, mientras que el 55% restante respondió a *Babesia* spp., con amplio predominio de *B.bo* sobre *B.bi* (1). A su vez, el 91% de los brotes de babesiosis ocurrió entre noviembre y junio, en tanto el 89% de los de anaplasmosis se produjo entre enero y julio, con un pico en abril para ambos agentes (1). El predominio de *B.bo* y *A.m.* en la casuística fue comunicado también por Sarmiento y Zimmer (2010) para brotes ocurridos durante 2009-2010 en Corrientes (3) y la estacionalidad en los brotes de anaplasmosis por Guglielmone y col. (1997) en rodeos de cría de Santa Fe, pero no en los rodeos lecheros de esa misma provincia (4). Tanto en este análisis como en los precedentes, la mayoría de los brotes se debieron a un único agente causal. Se concluye que las hemoparasitosis de los bovinos mantienen importancia como patologías regionales, aun disponiendo de tecnología para su control desde hace ya varias décadas. La mortandad registrada en más de la mitad de los brotes es apenas un indicador, si bien el más importante (2), de las cuantiosas pérdidas que estas noxas infligen a la ganadería bovina del norte argentino.

Bibliografía

- Späth, E.J.A. 1986. Un estudio epidemiológico de babesiosis y anaplasmosis bovina en el Valle de Lerma, provincia de Salta. Rev. Med. Vet. (B. Aires) 67 (5): 274-281.
- Aguirre, D.H.; Neumann, R.D.; Torioni de Echaide, S.; Mangold, A.J. 2011. Pérdidas económicas directas por un brote de anaplasmosis en un rodeo de cría del noroeste argentino. Rev. Arg. Prod. Anim. 31 (2): 145-153.
- Sarmiento, N.; Zimmer, P. 2010. Casuística de babesiosis y anaplasmosis bovina 2009-2010. INTA Mercedes. Ediciones INTA N° 456, 4 pp.
- Guglielmone, A.A.; Abdala, A.A.; Anziani, O.; Mangold, A.J.; Volpogni, M.M.; Vanzini, V.R. 1997. Different seasonal occurrence of anaplasmosis outbreaks in beef and dairy cattle in an area of Argentina free of *Boophilus microplus* ticks. Vet. Quart. 19 (1): 32-33.

P20-EPIDEMIOLOGÍA Y EFECTO DE LOS PARÁSITOS GASTROINTESTINALES EN LA CRÍA BOVINA DE LA REGIÓN DE SELVAS Y PASTIZALES PEDEMONTANOS

V.H. Suárez¹, J.F. Micheloud¹, G.M. Martínez², A.E. Viñabal¹.

¹ INTA, AISA IIACS con sede en EEA Salta, ² INTA, EEA Salta. vsuarez@correo.inta.gov.ar

INTRODUCCION

Los nematodos gastrointestinales (NGI) son unas de las principales limitantes sanitarias de la producción de carne bovina (Suarez, 1993). En el noroeste (NOA) subtropical de Argentina, existen regiones de selvas y pastizales pedemontanos que son aprovechadas para la cría de ganado. Actualmente, en estas zonas la creciente intensificación ha descubierto limitantes productivas que permanecían ocultas bajo regímenes productivos más extensivos, como aquellas relacionadas con las parasitosis del ganado. Debido a la escasez de información en estos temas, el objetivo del presente ensayo fue caracterizar la epidemiología y los efectos de los NGI en la cría bovina en esta región agroecológica.

MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se llevó a cabo en el Dto. de San Martín, Salta, bajo un régimen de lluvias estivales que se interrumpe con un período seco que se prolonga de abril-mayo a noviembre. Durante el período de marzo a diciembre 2015 se monitorearon terneras cruza Brangus de destete precoz, recriadas sobre pasturas de *Brachiaria brizantha* y *Panicum máximum* con suplemento de maíz. Se formaron tres grupos de 20 terneras que pastorearon con un lote de 300 animales más; grupos: GST con tratamiento sistemático cada 40-50 días (moxidectin, MXD: 200 mcg/kg), GTL con el tratamiento local del establecimiento realizado el 4/5/15 y el 5/8/15 con ivermectina (IVM: 200 mcg/kg) y GST sin tratamiento antihelmíntico. Se realizó conteo de huevos por gramo de heces (hpg) y coprocultivos para diferenciación de géneros. Se registró la ganancia de peso vivo (GPV) y las diferencias entre grupos se compararon por análisis de varianza (InfoStat).

RESULTADOS

Al inicio, los hpg promedios (595 ± 480) fueron de moderados a altos, lo que motivó el tratamiento con IVM del grupo GTL en mayo (Fig., 1). El hpg del GST se elevó hasta el inicio del invierno (907 ± 754), mientras que el GTL mostró solo un descenso parcial. Luego, a partir de julio el GST experimentó un descenso gradual del hpg hasta el final de las observaciones, mientras que

el GTL debió ser tratado nuevamente debido a mermas en la ganancia de peso, aunque la eficacia de la IVM fue del 48%. El grupo GTM siempre tuvo valores de hpg muy bajos, mostrando una eficacia del 93% de la MXD.

Los géneros de nematodos predominantes fueron *Cooperia* (81,9%), en menor medida *Haemonchus* (15,5%) y escasamente se recuperaron larvas de *Oesophagostomum* (2,3%) y *Trichostrongylus* (0,3%). No se recuperaron huevos de *Fasciola hepatica* ni larvas de vermes pulmonares.

A pesar que durante las observaciones no se presentaron signos clínicos de gastroenteritis verminosa, el efecto de los tratamientos se evidenció a partir del 2do muestreo observándose una diferencia ($p < 0,002$) entre el GTM y los otros dos grupos. A partir del tratamiento del GTL, se observaron diferencias significativas ($p < 0,01$) en la GPV entre grupos (Cuadro 1). Hacia diciembre las diferencias de peso del GTM y del GTL representaron un incremento con respecto al GST del 49,6 y 19,8 % respectivamente.

Cuadro 1: Resultado de las pesadas.

grupos	18/03/15 Peso inicial	01/12/15 GPV total	22/3/16. Peso Final
GST	158 a	52,0 a	262 a
GTL	153 a	64,9 b	263 a
GTM	158 a	77,8 c	289 b

Letras diferentes son diferencias significativas ($p < 0,05$)

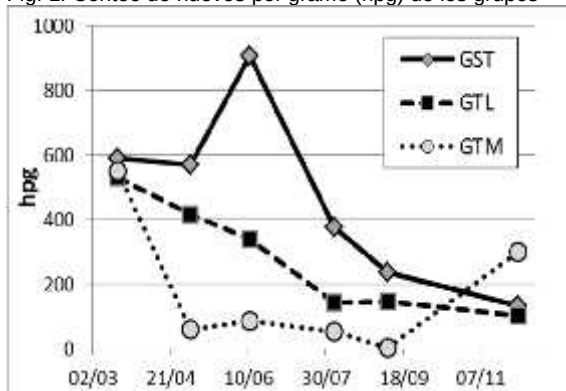
DISCUSIÓN

Los presentes resultados muestran un efecto nocivo de los NGI, principalmente *Cooperia* sp sobre la GPV que seguramente fue mayor, debido a que hubo en el diseño una interacción entre grupos, ya que el GTM pastoreó junto a una tropa de 300 terneras bajo el tratamiento local, por lo que nunca estuvo totalmente libre del efecto de los NGI. Además, los terneros destetados en enero ya venían con una carga de NGI importante que seguramente ya había afectado su GPV antes del inicio del presente ensayo. Estos motivos sugieren un tratamiento al destete y un 2do tratamiento fijado a partir de un monitoreo de hpg a lo largo de la recria. Por otro lado, la baja eficacia de la IVM, amerita una prueba de reducción del conteo de huevos para dar con una droga eficaz (Suarez y Cristel, 2014). Estos primeros resultados muestran la importancia de los NGI en los sistemas de carne bovina y la necesidad de profundizar los estudios en la región.

BIBLIOGRAFIA

Suarez, V.H. 1993. Las parasitosis internas del bovino en la región Semiárida y Subhúmeda Pampeana: ¿Cuáles son, qué producen? Bol. Divulgación Técnica (INTA-Anguil), 45, 27 p.
Suarez, V.H., Cristel, S.L., 2014. Risk factors for anthelmintic resistance development in cattle gastrointestinal nematodes in Argentina. RBPV, Rev Brasileira de Parasitologia Veterinária, Braz. J. Vet. Parasitol., 23, 2, 129-135.

Fig. 1: Conteo de huevos por gramo (hpg) de los grupos



P21-DETERMINACIÓN DE *Hepatozoon canis* EN CANINOS DEL CENTRO DE REINSERCIÓN MUNICIPAL DE LA CIUDAD DE RÍO CUARTO

C. Motta¹; L. Espinoza¹; M. Fiorimanti¹; M. Richardet¹; H. Lovera¹; C. Guendulain²; P. Gonzalez²; V. Nuesch³; S. Oberto³; Martin, V.¹

¹Enfermedades transmisibles y tóxicas de los pequeños animales, FAV-UNRC. ²Clínica Animal FAV-UNRC, ³Municipalidad de Río Cuarto
cmotta@ayv.unrc.edu.ar

Introducción: La Hepatozoonosis es una enfermedad vectorial que afecta a los caninos producida por *Hepatozoon* spp. Este hemoparásito del phylum Apicomplexa pertenece a la familia Hepatozoidae y está estrechamente relacionado filogenéticamente con los piroplasmas y hemosporidios. *Hepatozoon canis* se transmite por la ingestión de la garrapata *Rhipicephalus sanguineus* infectada con el parásito. Presenta una distribución cosmopolita, se ha identificado en diferentes regiones del sur de Europa, África, Asia y en algunos países sudamericanos, como Venezuela, Brasil y Argentina. En nuestro país se describe por primera vez en el año 1999 y desde entonces los hallazgos se han incrementado, habiéndose reportado en diferentes provincias, como Buenos Aires, Mendoza y Santa Fe. Todas las especies de *Hepatozoon* comparten un ciclo de vida básico que incluye el desarrollo sexual y esporogonia en un huésped definitivo invertebrado hematófago y merogonia seguido por gametogonia en un huésped intermediario vertebrado. La ingestión de una garrapata que contiene ooquistes maduros de *H. canis* es seguido por la liberación de esporozoítos en el tracto gastrointestinal del perro. Estos penetran en la pared intestinal y son transportados en forma hematogena a los tejidos hemolinfáticos, incluyendo el bazo, la médula ósea y ganglios, donde se forman los merontes. La merogonia también puede producirse en otros órganos viscerales, y está asociada con la presentación de hepatitis, neumonía y glomerulonefritis. Tras la liberación de merontes maduros, los merozoítos invaden a los neutrófilos, donde se desarrollan a gamontes y posteriormente circulan en la sangre periférica. Dependiendo del grado de parasitemia, puede tener una presentación subclínica con animales aparentemente sanos, o bien puede manifestarse como una enfermedad debilitante severa. Es común encontrarla asociada a otras enfermedades inmunosupresoras como Distemper, Parvovirus, Toxoplasmosis, Leishmaniasis, Babesiosis, Ehrlichiosis, etc. El objetivo de este trabajo fue determinar la prevalencia de *H. canis* en caninos del centro de Reinserción Municipal de la ciudad de Río Cuarto.

Materiales y métodos: Durante la primavera de 2014, se realizó un estudio transversal para determinar la prevalencia de *H. canis*, a partir de frotis sanguíneos, de caninos alojados en el Centro de Reinserción Municipal (CRM). Dicho centro es un establecimiento público de administración municipal, que tiene como objetivo albergar caninos que fueron recolectados de la vía pública y mediante el adiestramiento y modificación de la conducta se trata que los animales puedan ser reinsertados a la comunidad. Se encuentra emplazado en dos hectáreas de campo, contando con 20 caniles con capacidad para 3 animales cada uno y 6 caniles comunitarios de 5 animales. La mayoría de los caniles se hallan separados mediante tejido olímpico. Todos los animales presentes en el predio (n= 62) fueron evaluados. Se realizaron frotis sanguíneos de la vena cefálica antebraquial, se colorearon con la tinción de May Grünwald –Giemsa y fueron observados mediante microscopio óptico con objetivo de inmersión (1000X) en busca de gamontes dentro de neutrófilos y monocitos. Además, cada canino fue examinado durante 5 minutos a fin de recolectar todas las garrapatas que se pudiera en ese lapso de tiempo. Las garrapatas fueron posteriormente colocadas en alcohol etílico al 70%. Luego se procedió a la identificación de género y especie con una lupa de 20 aumentos. Para la identificación de las garrapatas del género *Amblyomma* se utilizó la clave de Guglielmone y Viñabal (1994).

Resultados: De los 62 animales evaluados, 20 fueron positivos a *H. canis* (32,2%). Ninguno de ellos presentó síntomas clínicos de enfermedad. El nivel de parasitemia fue bajo, siendo el porcentaje promedio de gamontes en neutrófilos y monocitos del 3% (rango=1-7%). El número de especímenes de garrapatas recolectado fue de 310, el 98% correspondió a *Rhipicephalus sanguineus* y solamente el 2 % a *Amblyomma tigrinum*.

Discusión: En el presente estudio se observó una elevada proporción de animales positivos a *H. canis* (32%), muy superior a la reportada por Ruiz *et al.* (2011) quienes observaron 2,5% de muestras positivas de caninos de la ciudad de Esperanza, Santa Fe. Esta diferencia posiblemente se deba a las condiciones de confinamiento del CRM, donde convive de un gran número de animales en un espacio limitado y a la dificultad de realizar un correcto control de ectoparásitos en dicho establecimiento debido a las características edilicias. La ausencia de síntomas clínicos se relacionó con el bajo porcentaje de gamontes en neutrófilos y monocitos. Este hallazgo concuerda con Baneth (2011) quien observó que la presentación más común de *H. canis* es una infección subclínica y generalmente asociada a un bajo nivel de parasitemia (1-5%).

La presencia de *A. tigrinum* se asoció al ámbito rural donde se encuentra emplazado el establecimiento y a la estación del año en la que se realizó este estudio, ya que en la primavera es donde se observa un pico de abundancia de los estadios adultos. El elevado porcentaje de animales positivos y el abundante número de garrapatas observado, determinan la necesidad de modificar la estructura edilicia para facilitar el manejo y limpieza de la misma, así como la urgencia de tomar medidas más efectivas de prevención y control al ingreso de los animales y durante su permanencia en el predio. Además, teniendo en cuenta que estos animales recuperados de la vía pública posteriormente serán entregados en adopción por las sociedades protectoras colaboradoras, resulta muy valioso el abordaje multidisciplinario de la sanidad del predio entre la UNRC y el CRM.

Bibliografía.

Baneth, G., 2011. Perspectives on canine and feline hepatozoonosis. *Veterinary Parasitology* 181 (2011) 3– 11.

Fernández, H.; Esarte, M. 2006. Hepatozoonosis canina: descripción de dos casos clínicos, de la zona oeste del gran Buenos Aires. *Vet. Arg.* Vol XXIII (221) pp 64- 77.

Guglielmone, A. A.; Viñabal, A. E. 1994. Claves morfológicas dicotómicas e información ecológica para la identificación de las garrapatas del género *Amblyomma* Koch, 1844 de la Argentina. *RIA*, 25 (1):39-67, 1994. INTA, Argentina.

Linares, M. C. 2011. Hepatozoonosis canina en la provincia de Mendoza, Argentina. Hallazgos clínicos y de laboratorio. <http://www.umaza.edu.ar/archivos/file/Tesis%20Linares.pdf>.

Ruiz, M. F.; Zimmermann, R. N.; Bono, M. F.; Peralta, J. C. 2011. Hallazgo de *Hepatozoon canis* en la ciudad de Esperanza, Santa Fe, Argentina. Libro de resúmenes de las XII Jornadas de Divulgación Técnico Científicas en Ciencias Veterinarias. 389-390.

P22- SEROPREVALENCIA DE NEOSPOROSIS EN BOVINOS PERTENECIENTE A PEQUEÑOS PRODUCTORES EN LA CUENCA LECHERA DE AURORA, PROVINCIA DE MISIONES

J. Fernández¹; J. Giraudo^{1,2}; E. Sticotti¹; M. Mació¹; M. Schneider¹; C. Rang¹; A. Rojo⁴; G. Gómez⁵; V. Nievas³; C. Sturniolo¹; H. Lovera¹; E. Bergamo¹; D. Zubeldía¹.

¹Grupo Sanidad en Rumiantes, FAV, Universidad Nacional de Río Cuarto. ²LASA Río Cuarto. ³Dpto. Producción Animal, FAV, Universidad Nacional de Río Cuarto. ⁴Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria.

⁵Secretaría de Agricultura Familiar de la Nación.

jgiraudo@ayv.unrc.edu.ar

Introducción

La neosporosis es una enfermedad abortígena de amplia difusión e impacto económico en rodeos bovinos de leche y carne, tanto en Argentina como en el resto del mundo. El agente responsable es un protozoo denominado *Neospora caninum*, siendo el bovino huésped intermediario, y perro el huésped definitivo del parásito. El consumo de alimentos contaminados con materia fecal de los perros sumado a la transmisión vertical son factores que tdiseminan en un rodeo. Desde el primer reporte de abortos asociados a este agente en Argentina (Campero et al., 1998), diversos grupos de investigación han realizado relevamientos serológicos en rodeos de carne y leche, principalmente en cuencas lecheras de la Pampa Húmeda (Fort et al., 2015).

En la provincia de Misiones, imperan los sistemas de producción lechera a pequeña escala con escaso uso de tecnología (Schneider y col., 2016). Según registros de la Secretaría de Agricultura Familiar, la cuenca lechera de Aurora, en la provincia de Misiones, cuenta con aproximadamente 190 productores lecheros y un promedio de 8 vacas en ordeño, en su mayor parte agrupados en cooperativas lecheras. A través de resultados de encuestas y trabajos de terreno que nuestro equipo realiza desde hace más de 13 años en esta provincia y en la zona de Aurora en particular, existen antecedentes de abortos y baja eficiencia reproductiva en la región; se ha realizado diagnóstico serológico de Brucelosis bovina y los resultados son de prevalencia cero, sin determinar otras causas de estos cuadros abortígenos, (Schneider y col., 2016). A conocimiento de los autores, no hay información disponible sobre la neosporosis en esta región.

El objetivo del presente trabajo es informar los resultados de relevamientos serológicos de neosporosis bovina en tambos de pequeños productores de la cuenca lechera de Aurora, en la zona centro – este de la provincia de Misiones.

Materiales y Métodos

Se extrajeron muestras de sangre sin anticoagulante de 168 vacas adultas, pertenecientes a 22 productores a la cuenca lechera de Aurora, en el centro-este de la provincia de Misiones. Las muestras de suero fueron congeladas y remitidas a un laboratorio privado, donde se realizó la técnica de Enzimo-inmuno ensayo (ELISA), utilizando el kit comercial de Idexx™ Laboratories Inc., siguiendo las instrucciones de los fabricantes.

Resultados

A través de la técnica de ELISA, 56 animales de un total de 168, resultaron positivos, siendo entonces la seroprevalencia estimada del 33,33%.

Discusión y conclusiones

La prevalencia detectada en el presente trabajo es mayor a la observada en otras regiones del país, como en tambos de la provincia de La Pampa (Fort et al., 2015), donde obtuvieron un 20,3%.

Por otra parte, la seroprevalencia en nuestro muestreo fue similar a la reportada en tambos de pequeños productores del oeste de Uruguay (Furtado y col., 2011), donde las muestras fueron colectadas de rodeos de los departamentos de Durazno y Tacuarembó, arrojando un 25,2% y un 33,3% de animales seropositivos respectivamente. La seroprevalencia obtenida por Corbellini et al. (2006) en rodeos lecheros medianos (60

vacas totales en promedio), en el sudeste de Brasil fue del 17,8%, siendo significativamente menor a la detectada en nuestro estudio.

Cabe destacar que en los 22 establecimientos evaluados se constató la presencia de perros, atribuyéndole a los mismos un importante rol en el mecanismo de ingreso y diseminación de la enfermedad en los rodeos (Corbellini et al., 2006). Asimismo, la mayor seroprevalencia detectada en pequeños establecimientos, ya fue observada por Corbellini et al (2006), asociada según estos autores al estrecho contacto que tienen los perros con los bovinos en las explotaciones de pequeña escala.

El tamaño del rodeo, y el sistema de producción conlleva una estrecha relación entre bovinos y caninos, la reposición es casi exclusivamente interna, aunque también se realizan intercambios entre vecinos, generando de esta manera las probabilidades de mantener la enfermedad en los rodeos por su efectiva transmisión vertical. (Corbellini et al. 2006)

Las características del ambiente en la zona de estudio, como la mayor temperatura y humedad relativa en comparación con otras regiones del país, incrementan el riesgo de exposición al agente en base a lo reportado por Corbellini et al. (2006).

Bibliografía

Campero CM, Anderson ML, Conosciuto G, Odriozola H, Bretschneider G, Poso MA. 1998. Neosporacanium-associated abortion in dairy herd in Argentina. Veterinary Record, 143, 228-229
Fort M, Edelsten M, Maley S, Innes E. 2015. Seroepidemiological study of Neosporacanium in beef and dairy cattle in La Pampa, Argentina. Acta Parasitologica, 2015, 60(2), 275-282
Corbellini LG, Smith DR, Pescador CA, Schmitz M, Correa A, Steffen DJ, Driemeier D. 2006. Herd-level risk factors for Neosporacanium seroprevalence in dairy farms in southern Brazil. Prev Vet Med 74 (2006) 130-141
Furtado A, Rosadilla D, Cattáneo M, Bermúdez J, Puentes R. 2011. Ocorrência de anticorpos anti-Neosporacanium em pequenas propriedades leiteiras do Uruguai. Ciência Rural, Santa Maria, v.41, n.4, p.673-675
Schneider MO, Giraudo JA, Magnano GG, Sticotti E, Mació M, Macías A, Rang C, Zubeldía D, Bergamo E, Lovera H, Gómez G, Rojo A. 2016. Más de una década de experiencia de articulación con agricultores familiares de la provincia de Misiones. Capítulo del Libro "Extensión universitaria en América Latina: nuevas perspectivas de análisis". Editorial de la Facultad de Medicina de Bahía (Brasil) – FMB/UFBA. (En Prensa)

PATOLOGIA

PT1- NIVELES SERICOS DE CALCIO, FOSFORO, MAGNESIO, COBRE Y ZINC EN VACAS DE CRIA Y TERNEROS EN EL CHACO TROPICAL SALTEÑO.

Micheloud, J.F.; Suárez, V.H, Martínez, G.M.; Rosa DE, Ventura MB, Mattioli, GA.

AISA-IIACS Salta/INTA. RN 68, km 72- Salta, Argentina.2. Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias-UCASAL. 3- Laboratorio de Nutrición Mineral, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata.

micheloud.juan@inta.gob.ar

Introducción

La ganadería de cría sobre pasturas naturales y recursos perennes (pasturas megatérmicas), es una de las principales actividades en la provincia de Salta. La utilización de estos recursos forrajeros durante todo el año, genera en ciertos momentos del ciclo productivo y fisiológico de los vientres, deficiencias minerales que afectan seriamente la productividad de los rodeos². El objetivo del presente trabajo consistió en relevar las posibles deficiencias minerales en vientres a lo largo de las cuatro estaciones del año, durante tres años

Materiales y Métodos

Se evaluó un rodeo bovino ubicado en la localidad de Cornejo, Departamento San Martín, al norte de la provincia de Salta. La cría se realiza sobre pasturas megatérmicas (*Brachiaria brizantha* y *Panicum maximum*). El manejo reproductivo responde al servicio natural estacionado entre septiembre y octubre, destetando los terneros precozmente entre enero y febrero. El pastoreo se decide en relación a la disponibilidad de forraje según la estación, con escasa suplementación con maíz molido a campo durante algunos periodos críticos. El ensayo se inició en marzo de 2015 con el primer muestreo y se extendió hasta marzo de 2016. Los muestreos se efectuaron a intervalos de 60-90 días, se seleccionaron del rodeo 20 vacas y 20 terneros de destete que fueron identificados y mantenidos sin ningún tipo de suplementación mineral durante el ensayo. Se extrajo suero libre de hemólisis por centrifugación para la determinación de Ca, P, Mg, Cu y Zn. Las concentraciones de Ca, Mg, Cu y Zn se midieron por espectrofotometría de absorción atómica de llama (Perkin Elmer AAnalyst 200), y las determinaciones de P se realizaron mediante espectrofotometría UV-visible (Perkin Elmer-Lambda25), según indicaciones del fabricante. Las diferencias entre grupos se compararon por análisis de varianza (InfoStat).

Resultados

Todos los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 1; observándose diferencias significativas entre vacas y terneros para el cobre en todos los periodos muestreados ($p < 0,05$). Las diferencias entre periodos fueron significativas ($p < 0,001$) para el fósforo entre los muestreos de dic-15 y mar-16 y los muestreos

previos (mar.-15, jun.-15 y sept.-15) tanto para los terneros como para las vacas.

Discusión

El presente trabajo demuestra la existencia desbalances minerales para ambas categorías muestreadas. La carencia más severa estuvo vinculada al cobre. Como se observa en los resultados los terneros presentaron niveles bajos para este micro mineral prácticamente durante todo el estudio. Las vacas por su parte presentaron niveles límites para el mismo, lo que sugiere que este puede ser un factor limitante durante algunos periodos del año. El fósforo por su parte se mantuvo estable durante casi todo el ensayo, aunque durante el verano (dic-2015 y mar-2016) los valores séricos descendieron en ambas categorías. Los demás minerales estudiados se mantuvieron dentro de los límites de normalidad durante todo el ensayo tanto en vacas como en terneros.

La deficiencia de fósforo y cobre es bien conocida en ambientes tropicales². Su impacto sobre la producción ha sido ampliamente demostrado en la bibliografía y este trabajo demuestra la presencia de desbalances que deben ser corregidos para mejorar la productividad del sistema.

Para el caso de fósforo la deficiencia casi siempre es primaria, y se debe a niveles bajos del mineral en las pasturas¹. Por este motivo su corrección se basa en suplementar sales ricas en dicho mineral durante los periodos críticos. Por otro lado la deficiencia de cobre puede ser secundaria a la presencia de antagonistas como molibdeno, hierro, etc³. Atento a esto se deben efectuar estudios sobre las fuentes de alimento y agua para determinar cuál es la causa de esta carencia.

Los estudios sobre minerales en el Noroeste Argentino (NOA) son escasos y profundizar sobre estos aspectos permitirá tomar medidas de control que mejoren la competitividad del sector a nivel nacional.

Agradecimientos

Al veterinario asesor (Dr. Raúl Marín), a la empresa POCOY S.A. y al personal del establecimiento que contribuyó a que este trabajo fuera posible.

Fecha de muestreo		Ca(mg/dl)	Mg(mg/dl)	P(mg/dl)	Cu(μg/dl)	Zn(μg/dl)
mar-15	vacas	9,4±1,1	2,3±0,2	5,6±1,2	71,1±9,5	131,8±18,8
	terneros	9,9±1,6	2,0±0,2	6,8±1,2	64±12	93±19
jun-15	vacas	10,4±1,3	2,8±0,4	5,2±0,8	69±9,1	139,2±23,1
	terneros	10,5±1,9	2,1±0,5	5,4±0,4	35±14	112±29
sep-15	Vacas	9,5±1,5	2,3±0,5	5,7±0,7	63,6±12,2	123,1±30,2
	terneros	9,8±0,9	2,3±0,4	6,4±1,5	55±16	121±23
dic-15	Vacas	11,9±1,9	2,4±0,4	3,7±0,3	64,1±10,3	105,6±23,9
	terneros	11,1±1,8	2,2±0,37	3,1±0,43	42±14	116±55
mar-16	Vacas	11,1±1,6	2,5±0,3	3,7±0,4	63,7±10,8	126,5±20,7
	terneros	10,6±1,8	2,4±0,37	3,5±0,36	47±19	114±22

Tabla 1: Niveles minerales en vacas y terneros (valor promedio ± desvío estándar) en cada uno de los muestreos efectuados durante el ensayo.

Bibliografía:

1. Karn, J. F. (2001). Phosphorus nutrition of grazing cattle: a review. *Animal Feed Science and Technology*, 89(3), 133-153.
2. Cunha, T. J., & McDowell, L. R. (2012). *Nutrition of grazing ruminants in warm climates*. Academic Press.
3. Rosa, D. E., & Mattioli, G. A. (2002). Metabolismo y deficiencia de cobre en los bovinos. *Analecta veterinaria*, 22.

PT2- USO DE TIRAS REACTIVAS DE ORINA PARA ESTIMAR LA PREVALENCIA EN RODEOS AFECTADOS POR HEMATURIA ENZOOTICA BOVINA.

Micheloud JF¹; Colque Caro LA; Suarez V; Riet-Correa F¹

1. AISA-IIACS Salta/INTA. RN 68, km 72- Salta, Argentina.2. Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias-UCASAL. 3- INIA-Uruguay. micheloud.juan@inta.gob.ar

Introducción

La hematuria enzoótica Bovina (HEB) es una enfermedad mundialmente distribuida causada por la ingestión prolongada de ptaquilosidos (PT) presentes en algunos helechos (*P. aquilinum*)¹. Se caracteriza por la presencia de lesiones neoplásicas en la vejiga urinaria siendo el signo principal la aparición de sangre en orina. La presencia de hematuria, puede ser usada como estimador de prevalencia en rodeos donde la enfermedad es endémica². Este trabajo evalúa el uso de las tiras reactivas de orina como método para cuantificar la presencia de hematuria en "rodeos endémicos" y "no endémicos" para HEB en comparación con la evaluación del sedimento urinario.

Materiales y Métodos

Se colectaron muestras de orina mediante masaje perineal en animales mayores de 3 años provenientes de rodeos con y sin antecedentes de HEB. Se definió como "Positivo" a aquellos rodeos que presentaran antecedentes históricos de la enfermedad y que al menos presentaran un animal afectado al momento de la visita. Adicionalmente en aquellos rodeos que se tuvo acceso, se efectuaron 8 necropsias. En concordancia se definió como "rodeo negativo" a aquellos con ausencia de antecedentes históricos de la enfermedad y que además no presentaran ningún animal con un cuadro compatible a HEB al momento de la visita. Se efectuó un muestreo al azar estratificado según el tamaño del rodeo por unidad productiva (UP) definiéndose un nivel de confianza del 95% y un error relativo del 5 % empleando una prevalencia esperada del 35 %. Las muestras de orina fueron rápidamente testeadas empleando tiras reactivas de orina (UTT) (®Wiener Laboratories S.A.I.C, Argentina) para la determinación de micro-hematuria. Los resultados fueron cuantificados empleando de 0 a 4 cruces (+) según las especificaciones del fabricante. Inmediatamente de testeadas las orinas fueron centrifugadas para la evaluación del sedimento urinario (ESU), considerándose la muestra positiva a hematuria cuando se observaran más de 5 eritrocitos por campo. En conclusión se consideró "enfermo de EEB" a aquellas muestras que resultaran positivas a UTT y a la exploración del sedimento urinario. Finalmente se calculó especificidad de UTT para detectar hematuria en rodeos con y sin antecedentes de HEB en contraste con ESU como técnica gold-estándar. Adicionalmente se empleó el test de Tukey para evaluar la diferencia entre UTT y ESU entre rodeos positivos y negativos para HEB.

Resultados

Se muestrearon un total de 20 establecimientos de los cuales 5 eran HEB – y 15 eran HEB +. Se colectaron un total de 363 muestras de bovinos de más de 3 años de edad, siendo la proporción de animales muestreados del 22,2 % en HEB+

(n=243) y de 21,2% en rodeos HEB – (n=129). En algunas granjas se modificó la cantidad de ganado en la muestra de acuerdo con la voluntad y el interés de los propietarios. En las 8 necropsias realizadas se identificaron lesiones características macro y microscópicas para BEH. La prevalencia de hematuria detectada mediante UTT y confirmada por ESU en los rebaños HBE+ fue del 47%, valor significativamente diferente ($P < 0,0008$) de la prevalencia obtenida en los rebaños sin HEB – (4,7%). De las muestras UTT positivas en rodeos con historial de BEH (n=114) el 30,78% (35/114) resultaron valores de una 1+ y solo tres de estas fueron negativas a ESU. Clínicamente 26,3% (30/114) de las muestras recogidas de "rebaños endémicos" presentaron hematuria macroscópica mientras que ninguna de las muestras de orina de los rebaños donde HEB estaba ausente presentaron evidencias de hematuria macroscópica. La especificidad y valor predictivo positivo de UTT para detectar la hematuria en rebaños con una historia de BEH se expresan en la tabla anexa.

Discusión

La HEB produce importantes pérdidas económicas en la industria ganadera y como otras enfermedades, conocer la prevalencia es esencial para el establecimiento y la evaluación de las medidas de control. Estimar su prevalencia es un gran desafío y varios estudios estiman el impacto de la enfermedad en base de los resultados de mataderos. Este método, aunque específico, tiene la dificultad de que sólo se puede utilizar en animales sacrificados. Otros autores han utilizado con éxito la ecografía y la cistoscopia como métodos alternativos para el diagnóstico de EBH.

Si bien la hematuria es un signo "típico" de esta enfermedad no es exclusiva de ella y otras enfermedades deben ser contempladas como diferenciales. Por este motivo el empleo del urianálisis debe ir acompañada de un correcto diagnóstico clínico y patológico de la enfermedad en el rebaño. La detección de micro hematuria han sido reportados en enfermedades caracterizadas por producir hematuria crónica en humanos². En este trabajo la presencia de HEB fue confirmado mediante la observación de los animales clínicamente afectados en el momento de la toma de muestras y estos resultados son sostenidos por los hallazgos de necropsia encontrados en los 8 animales eutanasiados.

Los resultados de UTT como método para estimar la prevalencia se sostienen en la diferencias en los niveles de hematuria detectados en rodeos HEB positivos y negativos (47% vs 4% respectivamente). En consecuencia, podemos concluir que los estados de hematuria detectados por UTT son atribuibles a la presencia de HEB.

Resultados de UTT	N de positivas	Positiva a ESU	Nº falsos positivos	% Falsos positivos	Especificidad	VPP
+	40	33	7	17,5	36,3%	81,6%
++	27	27	0	0	100%	100%
+++	26	36	0	0	100%	100%
++++	36	36	0	0	100%	100%
UTT general	133	126	7	5,3%	68,4%	94,6%

Bibliografía

- 1- Sánchez-Villalobos A, et al. 2006. Validez, seguridad y cociente de verosimilitud de los métodos de tiras reactivas para orina y examen microscópico del sedimento urinario en el diagnóstico de la hematuria vesical enzoótica bovina. Rev Cien FCVLUZ 16: 604-612.
- 2- Houmsou, R. S., et al., 2011. Performance of microhaematuria and proteinuria as measured by urine reagent strips in estimating intensity and prevalence of Schistosoma haematobium infection in Nigeria. Asian Pac J Trop Dis, 4, 997-1000.
- 3- Smith, B. L. (1997). The toxicity of bracken fern (genus Pteridium) to animals and its relevance to man. In: Handbook of Plant and Fungal Toxicants, J. P. F. D'Mello, Ed., CRC Press, London, pp.63-76.

PT-3 DEFICIENCIA PRIMARIA DE SELENIO EN CORDEROS CON DIAGNÓSTICO PRESUNTIVO DE MIOPATÍA NUTRICIONAL

Rodríguez AM¹, Cesa A¹, Victoria D², Schmidt D³, Fernández EL⁴, Brambilla EC⁴. ¹ INTA EEA Cuenca del Salado, ² Veterinario de actividad privada, ³ Laboratorio Central de Análisis Clínico, ⁴ INTA EEA Balcarce. rodriguez.alejandro@inta.gob.ar

Introducción

La miopatía nutricional en ovinos o enfermedad del cordero rígido es una afección frecuente en muchas áreas del mundo que ocurre como consecuencia de la deficiencia en la dieta de selenio (Se) o vitamina E, pero raramente ambas. El cuadro clínico se presenta, principalmente, en corderos menores a 8 meses de edad y en rápido crecimiento. La tasa de mortalidad suele ser baja, mientras que un alto porcentaje de corderos puede padecer la enfermedad de manera subclínica. Factores estresantes pueden actuar como condicionantes en la presentación clínica. Las lesiones y sus correspondientes signos clínicos son tan variados como las circunstancias bajo la cual ocurre la miopatía. Principalmente afecta los músculos del hombro y el muslo, pero también parte posterior del cuello y los músculos respiratorios. La apariencia de los músculos afectados es similar a la descrita para los terneros, aunque la probabilidad de mineralización muscular es mayor. En el presente trabajo se describen las características clínicas en un presunto caso de miopatía nutricional en corderos con deficiencia primaria de selenio en la provincia de Buenos Aires

Materiales y métodos

El episodio ocurrió en un establecimiento de partido de Rauch, Buenos Aires. El problema afectó a miembros de una majada compuesta por 154 ovinos ¾ Dorper ¼ Corriedale de dientes de leche a boca llena. Al momento de desencadenarse el problema, los animales se encontraban en un potrero de 15 ha, con una cobertura vegetal del 50-60% y baja disponibilidad de especies forrajeras, tanto nativas como naturalizadas. Doce días después de realizar el descole (03/02/16), una de las corderas de 6 meses de edad, aproximadamente, se vio clínicamente afectada. El día 06/02 se realizó un examen clínico completo y se tomaron muestras de sangre sin anticoagulante tanto de la cordera con signología clínica, como de 6 compañeros del lote. Diez días más tarde (16/02), una nueva muestra de sangre con y sin anticoagulante fue extraída de la cordera con signología clínica. Una vez tomada la primera muestra de sangre se efectuó, sobre el animal clínicamente enfermo, una terapia a base de oxitetraciclina, complejo B, dexametasona. Luego este animal fue retirado del establecimiento y trasladado a instalaciones del INTA para un mayor seguimiento. Tras 10 días de evolución y bajo un pronóstico desfavorable, se le aplicó 2cm³ de una solución de aporte nutricional que contenía vitamina A y E, metionina, fósforo, potasio, cobre, zinc y selenio, previa extracción de una segunda toma de muestra de sangre. A su vez, al finalizar el problema, se efectuó una recorrida por el potrero donde había permanecido la majada por más de 2 meses. Allí se recolectaron muestras de especies forrajeras para determinar la concentración de selenio. Se realizó el hemograma a través de un contador hematológico Mindray BC5150; se determinó la actividad de las enzimas creatin quinasa, (CK) transaminasa glutámico oxalacética (TGO) y lactato deshidrogenasa (LDH) a través de un autoanalizador de química clínica Metrolab CM250 en cinética a 37°C con rediluciones automáticas. Se determinó la concentración de cobre por espectrofotometría de absorción atómica. Mientras que la concentración de selenio, tanto en suero como en forraje, se realizó por plataforma de hidruros acoplado a un espectrofotómetro de absorción atómica. Tras 25 días de observación, luego de haber revertido el cuadro clínico y bajo un pronóstico favorable, la cordera fue llevada nuevamente al establecimiento de origen.

Resultados

La cordera afectada presentaba paresia y debilidad en los miembros. Esta condición se traducía en una marcha dificultosa. En un principio los signos se localizaban, principalmente, en el miembro torácico derecho para luego de 48hs progresar hacia ambos miembros. Al examen clínico se observó taquicardia (120 FC), taquipnea (40 FR), temperatura rectal de 40,9°C y palidez de mucosas. Los resultados de las pruebas analíticas realizadas a partir del suero se resumen en la tabla 1. Los resultados del hemograma no revelaron alteraciones. Mientras que la concentración de Se en el forraje fue de 32.11 ppb (valores de referencia: 100,00-300,00 ppb).

Tabla 1: Actividad enzimática de CK, TGO y LDH, concentración de cobre y selenio sérico en dos momentos con 10 días de intervalo en la cordera con signos clínicos y actividad enzimática de CK en otros miembros de la majada. Id: identificación, Det: determinación. ND: no determinado

	Id	Det	06/02	16/02	VR
Cordera c/signos		CK	381	1352	7,7- 101 UI/L
		TGO	463	167	49-123 UI/L
		LDH	2300	1722	83-476 UI/L
		Se	<15	<15	>50 ng/ml
		Cu	45	60	>60 µg/dl
Cordero 1		CK	338	ND	7,7- 101 UI/L
Cordera 2		CK	280	ND	7,7- 101 UI/L
Cordera 3		CK	225	ND	7,7- 101 UI/L
Borrega 4		CK	599	ND	7,7- 101 UI/L
Oveja 5		CK	337	ND	7,7- 101 UI/L
Oveja 6		CK	309	ND	7,7- 101 UI/L

Discusión

Los resultados del examen clínico revelaron una paresia o parálisis parcial. Este signo clínico puede responder a un síndrome de motoneurona inferior, a enfermedades neuromusculares o a miopatías, todas ellas con mayor o menor grado de compromiso de la motricidad. La actividad enzimática, en el suero de la cordera con signología clínica, reflejó un incremento en la concentración de CK, TGO y LDH. A su vez, también se observó un aumento de la actividad enzimática de la CK en el suero de los animales clínicamente sanos integrantes de la majada. Este aumento pudo deberse al daño de la membrana a partir de un agente traumático o ser la evidencia de una disfunción de la membrana de la célula muscular como ocurre en las miopatías de origen nutricional. Esta disfunción podría responder a la baja concentración de Se en suero, como se observó en ambas muestras analizadas pertenecientes a la cordera con signología clínica. El origen de este valor en suero podría estar relacionado a la baja concentración de Se que se registró en las especies forrajeras, condicionando de esta forma una deficiencia primaria. Por último, hubo una respuesta aparentemente favorable en el aspecto terapéutico tras el tratamiento con una solución de aporte nutricional que contenía selenio. La signología clínica observada, la edad de los animales, el aumento en los valores de CK, TGO y LDH, los niveles deficientes de selenio en el suero del animal afectado y en el forraje, así como una aparente respuesta favorable tras el tratamiento permiten presumir un caso de miodistrofia nutricional por carencia primaria de selenio.

Bibliografía

Mass, J. & Valberg, S. J. 2010. Rabdomiólisis nutricional y tóxica. Miodegeneración nutricional. En: Smith, B. P. (ed.) Medicina interna de grandes animales 4ta Ed. Elsevier, Madrid (España):pp.1405-140

PT4- EVALUACIÓN DE MODELO EXPERIMENTAL PARA OBTENCIÓN DE CÉLULAS CON POTENCIAL NEUROGÉNICO DE MÉDULA ESPINAL EN RATAS

RB Luna¹, A Pastoriza¹, RA Guerrero², RE Escalante². ¹Lab. Cátedra de Genética - Carrera de Medicina Veterinaria, Fac. de Agronomía y Zootecnia; ²Lab. Electrofisiología Básica y Aplicada en Rehabilitación, Fac. de Medicina. Universidad Nacional de Tucumán. San Miguel de Tucumán, Tucumán – Argentina. Email: lunarominab@gmail.com

Introducción

La lesión de la médula espinal en los animales domésticos, constituye un evento sustancial, asociado con la pérdida de capacidades del sistema neuromuscular y la disfunción del sistema de la contención y evacuación. La búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas que mejoren los signos y síntomas de estos pacientes, concentra varias investigaciones experimentales y clínicas (Samadikuchaksaraei A. 2007). En este sentido se ha documentado que, la reparación podría lograrse mediante fuentes endógenas, permitiendo plantear cuestiones relacionadas con el reemplazo celular y la neurogénesis (Kang SK, *et al.* 2006; Mothe AJ, *et al.* 2005.) por lo cual, resultaría significativo identificar las células con potencial génico, sin inducir daño medular y con posibilidad de su manipulación para desarrollar alternativas de terapia autóloga (García-Ovejero D, *et al.* 2015.). Los objetivos del presente trabajo mediante la toma de muestras celulares mínimamente invasiva, son: a) Evaluar la coordinación y el equilibrio motor de animales donde se tomó muestra de tejido medular; b) Mediante citogenética clásica, identificar ependimocitos en mitosis, en la muestra.

Materiales y Métodos

Se trabajó utilizando ratas adultas Wistar n=20, divididas en dos grupos: Grupo 1 (G1, n=5) y Grupo 2 (G2, n=15). El uso de animales se realizó respetando las normativas de; Guía del NIH - Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. NCR/USA/1996; CIOMS - Ginebra 1985; Directiva 86/609/CEE.

En ambos grupos la preparación pre-quirúrgica, se realizó con Ketamina (100 mg./kg.) y Xilacina (10 mg./kg.). Previa administración local de lidocaína al 2%, se procedió al abordaje quirúrgico, con el animal en hiperextensión de columna, a nivel de L1-L2, exponiéndose el área laminar entre dichas vértebras y luego la médula espinal. Solo en G2, utilizando un micro- manipulador con controles para los tres ejes del espacio, junto a una micropipeta, e ingresando por el surco medio dorsal de la médula, atravesando la comisura gris dorsal se tomó 1 µl. de muestra de tejido medular. Posteriormente en ambos grupos, se realizó asepsia del área quirúrgica, con el cierre mediante dos planos de sutura. La totalidad de los animales en estudio se mantuvieron en bioherio para observación, con alimento y agua ad-libitum, además de administración intramuscular de Cefalexina 20 mg./kg. y Dexametasona 1 mg./kg. cada 24 horas durante tres días.

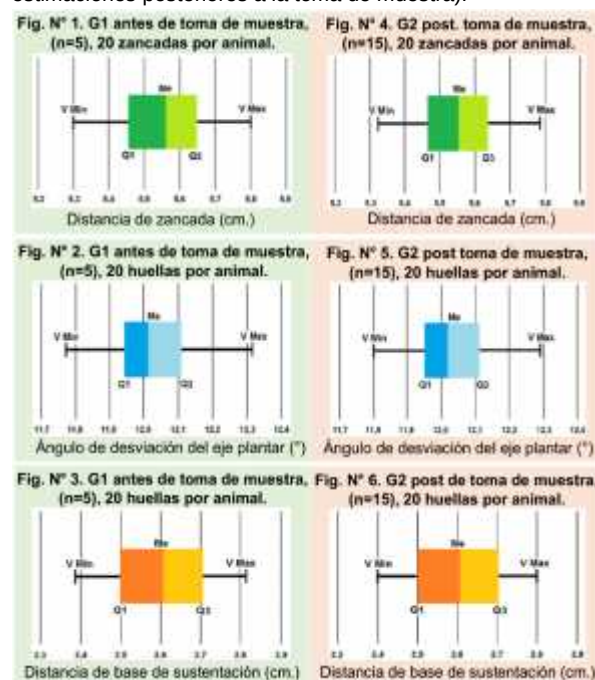
Se realizó evaluación de la coordinación motora y el equilibrio, en miembros posteriores, utilizando test de Footprint en ambos grupos (G1 y G2): una vez, cinco días antes, y después, cada 10 días, de la toma de muestra de tejido medular, hasta los 60 días. La técnica de citogenética clásica para observación de mitosis, consistió en: fijar la muestra en Carnoy, hidrólisis con ácido clorhídrico, disgregación celular, tinción con Hematoxilina propiónica, observación al microscopio óptico y registro.

Las variables estudiadas: a) Mediante el Footprint fueron, distancia de zancada, la desviación del eje plantar, distancia de la base de sustentación; b) Mediante la citogenética clásica, el número de células ependimarias en división por campo. El procesamiento estadístico de los datos, fue realizado mediante Excel, para su análisis descriptivo.

Resultados

En la evaluación de la coordinación y equilibrio motor mediante Footprint: a) en G1, la distancia de zancada presentó un rango intercuartilar de 0,18 cm. (figura N° 1), una media de 5,57 cm. y un desvío estándar de 0,11 cm. En G2, en cada una de las 6 evaluaciones, estos valores permanecieron muy similares (figura n° 4, representa una de las 7 estimaciones posteriores a la toma de muestra); b) en G1, la desviación del eje plantar presentó un rango intercuartilar de 0,17 cm. (figura N° 2), una media de 12,01 cm

y un desvío estándar de 0,09 cm. En G2, en cada una de las 6 evaluaciones, estos valores también permanecieron similares (figura n° 5, representa una de las 7 estimaciones posteriores a la toma de muestra); c) en G1, la base de sustentación presentó un rango intercuartilar de 0,21 cm. (figura N° 3), una media de 2,62 cm. y un desvío estándar de 0,12 cm. En G2, en cada una de las 7 evaluaciones, estos valores también permanecieron similares (figura n° 6, representa una de las 7 estimaciones posteriores a la toma de muestra).



En todas las muestras, se observó 4 ± 1 células ependimarias por campo y 1 ± 1 divisiones mitóticas (figura N° 7), mediante microscopía óptica (X40).

Discusiones

Según los resultados, el modelo no altera la funcionalidad de la médula espinal, permite contar con células para posibles protocolos de cultivo o diferenciación con fines terapéuticos. Este modelo nuevo, de obtención celular, podría representar un recurso técnico de gran potencialidad en investigación y terapia autóloga, para reparar médula espinal lesionada en animales.

Referencias Bibliográficas

- Dulin JN, *et al.* 2014. Bridging the injured spinal cord with neural stem cells. *Neural Regen Res.* 9(3): 229-231.
- García-Ovejero D, *et al.* 2015. The ependymal region of the adult human spinal cord differs from other species and shows ependymoma-like features. *Brain.* 138(6): 1583-1597.
- Kang SK, *et al.* 2006 Autologous adipose tissue-derived stromal cells for treatment of spinal cord injury. *Stem Cells Dev.* 15(4): 583-594.
- Mothe AJ, *et al.* 2005. Proliferation, migration, and differentiation of endogenous ependymal region stem/progenitor cells following minimal spinal cord injury in the adult rat. *Neuroscience.* 131(1): 177-187.
- Samadikuchaksaraei A. 2007. An overview of tissue engineering approaches for management of spinal cord injuries. *Journal Neuro Engineering and Rehabilitation* 4: 15.



PT5- HALLAZGOS EN NERVI SOMÁTICO A TENER EN CUENTA EN EL DIAGNÓSTICO POST-MORTEN DE PATOLOGÍAS DE TRASTORNO MOTOR EN ANIMALES

RB Luna¹, HE Vega Parry², AR Guerrero³, ER Escalante³, HS Grifasi³. ¹Lab. Cátedra de Genética; ²Cátedra de Anatomía y Fisiología Animal - Fac. de Agronomía y Zootecnia; ³Lab. Electrofisiología Básica y Aplicada en Rehabilitación, Fac. de Medicina. Universidad Nacional de Tucumán. Email: lunarominab@gmail.com

Introducción

Las patologías motoras, inducidas por lesiones en el Sistema Nervioso Central (SNC), suelen manifestar diferentes tipos de alteraciones morfofuncionales, bioquímicas y moleculares, que se citan en muchos textos de Neurología básica y clínica, así como, en diferentes artículos científicos generados a partir de modelos experimentales (Fulceri F, 2012.). Dentro de las patologías motoras, como ser el Parkinson, foco actual de varios modelos de estudio, se describen alteraciones motoras, bioquímicas, moleculares, y electrofisiológicas (Teruya PY, 2014.), pero no existe referencia que sugiera alteraciones en el Sistema Nervioso Periférico. También, en alteraciones motoras causadas por lesiones del SNC y pinzamientos radiculares, se han descrito diferentes cambios motores, morfofuncionales, bioquímicos, moleculares y electrofisiológicos, a nivel de estructuras centrales y periféricas. Por otro lado, sobre el *Nervi nervorum*, estructura simpática encargada de la inervación de los nervios somáticos, involucrado con el dolor, la inflamación y el mantenimiento de su trofismo (Bove G, 2008.; Reina MA, 2000), no ha sido dilucidado su rol en este tipo de patologías. Algunos trabajos sobre los *Nervi nervorum* en relación a los *Vasa nervorum*, sugieren un posible rol adrenérgico (Rechthand E, 1986.). Los objetivos del presente trabajo son: a) Identificar el *Nervi nervorum* en los nervios somáticos de animales sin y con alteraciones motoras. b) Observar la distribución del *Nervi nervorum* en los diferentes nervios estudiados.

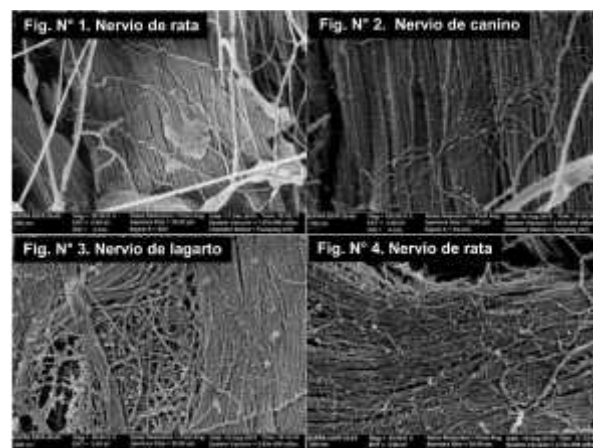
Materiales y Métodos

Se trabajó con biopsias de nervio del músculo bíceps crural de ratas adultas *Wistar*, n=15, adultas, pertenecientes a dos grupos: Grupo 1 (n=5) sin lesión del SNC y sin alteraciones motoras; Grupo 2 (n=10), todas modelo estandarizado de animal con Parkinson, inducido con neurotoxina 6-hidroxidopamina mediante lesión localizada en encéfalo. También se trabajó con biopsias de nervio somático periférico, pertenecientes a animales domésticos: caninos sanos, sin alteración motriz (n=2), caninos con lesión de SNC y compromiso motor de miembros caudales (n=6), y pinzamiento radicular lumbar con compromiso motor (n=4); felinos con lesión de SNC con compromiso motor de miembros caudales (n=3); y silvestres como reptiles con lesión de SNC con compromiso motor de miembros caudales (n=2). La toma de biopsias del nervio en los animales experimentales se realizó respetando las normativas de punto final, recomendadas en: Guía del NIH; CIOMS - Ginebra 1985; Directiva 86/609/CEE. Las biopsias de los animales domésticos y silvestres fueron donadas y obtenidas desde veterinarias locales, previa confirmación clínica de síntomas. Todas las muestras fueron procesadas siguiendo protocolo para Microscopía Electrónica de Barrido (MEB), realizándose la misma en el Centro Integral de Microscopía Electrónica (CIME) dependiente del CONICET/UNT de Tucumán, utilizando un equipo SEM Zeiss Supra 55VP.

Resultados

Mediante el presente estudio se encontró: a) En todos los nervios estudiados, de animales experimentales sin alteración motriz, la distribución del *Nervi nervorum* fue uniforme y regular a nivel intra e interfascicular (Figura N° 1); b) En todos los nervios estudiados, de animales experimentales, modelo de Parkinson, la distribución del *Nervi nervorum* fue uniforme, de gran concentración y con características tortuosas, a nivel intra e interfascicular (Figura N° 4); c) En todos los nervios estudiados, de animales domésticos sanos, como los caninos, el *Nervi nervorum* presentó idénticas características de distribución y dispersión que los animales experimentales sanos (Figura N° 1); d) En todos los nervios estudiados, de animales domésticos y silvestres, con lesión del SNC y compromiso motriz, como caninos, felinos y reptiles, el *Nervi*

nervorum presentó distribución irregular, con áreas de gran concentración y con características tortuosas a nivel intra e interfascicular (Figura N° 3); e) En todos los nervios estudiados, de animales domésticos, con pinzamiento radicular lumbar, como caninos y felinos, el *Nervi nervorum* presentó una distribución poco concentrada y localizada, a nivel intra e interfascicular (Figura N° 2).



Figuras N° 1-4. MEB de nervios somáticos en diferentes animales, donde se observan distintos grados de presentación del *Nervi nervorum*.

Discusión

Se logró identificar el *Nervi nervorum* en todas las muestras estudiadas, observándose que la distribución del mismo varía según el deterioro motor, y posiblemente en relación a la ubicación de la lesión en el sistema nervioso, sea esta motoneurona superior, motoneurona inferior o nervio. El aumento en la concentración de fibras nerviosas del *Nervi nervorum* a nivel del nervio somático, podría apoyar el rol adrenérgico sugerido (Rechthand E, 1986.), es decir, estaría asociado al descontrol en la contracción muscular del modelo experimental de Parkinson.

En base a los resultados se piensa que la MEB constituye un recurso técnico útil y fácil de desarrollar que, en nuestro caso, se utilizó para observar las alteraciones en patologías motoras del nervio periférico.

Por lo tanto, mediante el presente trabajo se identificó por primera vez las alteraciones del *Nervi nervorum* en patologías motoras.

Referencias bibliográficas

- Bove G. 2008. Epi-Perineurial Anatomy, Innervation, and Axonal Nociceptive Mechanisms. *J Bodyw Mov Ther.* 12(3): 185-190.
- Fulceri F, et al. 2012. Motor neuron pathology and behavioral alterations at late stages in a SMA mouse model. *Brain Res.* 1442: 66-75.
- Rechthand E, et al. 1986. Distribution of adrenergic innervation of blood vessels in peripheral nerve. *Brain Res.* 374: 185-189.
- Reina MA, et al. 2000. Morfología de los nervios periféricos, de sus cubiertas y de su vascularización. *Rev Esp. Anestesiol. Reanim.* 47: 464-475.
- Teruya PY, et al. 2014. Electrophysiological characterization of muscle activation in 6-OHDA rat model of Parkinson's disease. XXIX Congreso anual de la Sociedad Argentina de investigación en Neurociencias. SAN-ISBN Small Conference and course. 101.

PT6- VARIACIONES HEMATOLÓGICAS Y BIOQUÍMICAS EN CANINOS CON TUMOR VENÉREO TRANSMISIBLE INDUCIDAS POR EL TRATAMIENTO CON VINCISTINA

C. Maffrand⁽¹⁾; A. Benzoni⁽¹⁾; G. Cabral⁽¹⁾; M. Fiorimanti⁽¹⁾; A. Alcoba⁽¹⁾; G. Morilla⁽¹⁾; S. Rossi; C. Merks⁽¹⁾.

⁽¹⁾Universidad Nacional de Río Cuarto. E-mail: cmaffrand@hotmail.com

INTRODUCCIÓN:

El Tumor Venéreo Transmisible (TVT) es una neoplasia que afecta a los caninos. Se localiza a nivel de mucosas, principalmente genitales siendo muy agresivo localmente y rara vez metastatiza. Los signos clínicos dependen de la localización del tumor. Se transmite por trasplante de células neoplásicas en mucosas erosionadas. Los animales con TVT desarrollan policitemia⁽²⁾, lo cual podría ser de valor diagnóstico. El tratamiento más usado es sulfato de vincristina⁽³⁾. Entre los efectos adversos se describe la mielosupresión⁽¹⁾. Objetivo: evaluar la relación del TVT con factores bioquímicos y hematológicos previo y posterior al tratamiento con sulfato de vincristina.

MATERIALES Y MÉTODOS:

Se realizó un estudio observacional en 20 caninos con TVT de presentación espontánea, tratados con sulfato de vincristina (0.025 mg/kg). Se obtuvo una muestra de sangre previo y durante la quimioterapia para realizar estudios hematológicos y determinaciones bioquímicas (ALT, urea, creatinina, proteínas totales, albúmina y perfil electroforético). El análisis estadístico se realizó con el programa InfoStat.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN:

El 35% de los animales presentó anemia de leve a moderada y disminuyó a 17,6% a los 14 días, manteniendo porcentajes similares durante el resto del tratamiento. En la mayoría de los casos (66,6%) la anemia fue microcítica normocrómica, característica de las anemias por eritropoyesis inefectiva por pérdida crónica de sangre lo que permite inferir que en la mayoría de los animales, el cese de la hemorragia es la causa de la recuperación hematológica. No se presentaron animales con policitemias. El 40% de los animales presentó leucocitosis al momento de la consulta con neutrofilia (40%), desvío a la izquierda regenerativo leve (10%), linfopenia (20%), monocitosis (35%), eosinofilia (55%), eosinopenia (5%), lo que indicaría que estaban respondiendo a diferentes estímulos leucopoyéticos, debido probablemente, a que la mayoría de los perros presentaba un hábitat callejero que los expone a condiciones sanitarias adversas. Entre los 7 y 14 días post tratamiento se observó una disminución de los leucocitos a expensas de los neutrófilos en el 100% de los casos. El 45% de los pacientes presentó neutropenias severas (menores a 3000 neutrófilos/ μ l). Los leucocitos y neutrófilos se mantuvieron disminuidos mientras duró el tratamiento. Las diferencias fueron estadísticamente significativas ($p \leq 0.0001$). Esto demuestra el efecto mielosupresor selectivo para la serie neutrofílica producida por la vincristina durante el tratamiento del TVT. Los linfocitos y monocitos fluctuaron sin una tendencia establecida, con valores por encima de los de referencia para los monocitos a los 7 días de iniciado el tratamiento. El 55% de los animales presentó eosinofilia que se mantiene sin diferencias significativas a lo largo del tratamiento ($p \leq 0.0932$), aunque, la cantidad de animales que cursan con eosinofilia tiene una tendencia a disminuir a medida que se reducen las células neoplásicas en las biopsias analizadas con el avance del tratamiento. El mecanismo responsable de la eosinofilia no es conocido; sin embargo, el persistente incremento de eosinófilos en caninos con TVT, podría deberse a un factor eosinofilotáctico asociado al tumor. El promedio de plaquetas se encontró dentro de los valores de referencia, tanto en fase progresiva como regresiva, existiendo un porcentaje de animales que cursaron con trombocitopenia (22,2%) y trombocitosis (11,1%). Los animales con

tr trombocitopenia, podrían presentar exacerbación de los signos hemorrágicos. A los 7 días de iniciado el tratamiento se observa un leve incremento en el número promedio de plaquetas disminuyendo la cantidad de pacientes que presentaban trombocitopenias, probablemente debido a una estimulación de la vincristina sobre la liberación de plaquetas de los megacariocitos, efecto que es transitorio ya que si bien el número de plaquetas se mantiene a lo largo del tratamiento, la cantidad de pacientes trombocitopénicos vuelve a aumentar en los 14 y 21 días post tratamiento. La actividad de ALT, concentración de urea y creatinina se encontraron dentro de los valores de referencia para el canino, tanto en las muestras obtenidas previo y durante el tratamiento con vincristina, lo que sugiere que la funcionalidad hepática y renal no estaría seriamente comprometida como consecuencia del mismo. De todas maneras, es necesario el control bioquímico previo a una quimioterapia, para tener una visión de las posibilidades de metabolización, activación y eliminación de los agentes citotóxicos. Las proteínas totales (PT), albúminas (Alb) y globulinas (Glob), se encontraron dentro de los valores de referencia para la especie canina. La corrida electroforética sobre acetato de celulosa mostró las distintas bandas correspondientes a cada proteína sérica, separándose en: Alb, alfa-1 globulinas ($\alpha 1$), alfa-2 globulinas ($\alpha 2$), beta-1 globulinas ($\beta 1$), beta-2 globulinas ($\beta 2$) y gama globulinas ($\gamma 1$ y $\gamma 2$). Estas últimas no presentaron una banda neta de separación por lo cual se las consideró juntas. Las concentraciones de $\beta 2$ globulinas se observaron en el límite superior del valor de referencia o ligeramente incrementadas. Entre las globulinas que corren en esta fracción, está la $\beta 2$ microglobulina, y sus valores séricos reflejan el grado de activación del sistema inmune, pudiendo ser utilizados como marcadores en procesos tumorales. Este incremento de las β -globulinas podría relacionarse a los mecanismos inmunológicos de control del TVT. El resto de las globulinas fluctuaron dentro de los referenciales.

CONCLUSIÓN

Del perfil hematológico, los cuadros de anemia, leucocitosis, neutrofilia, monocitosis y eosinofilia se relacionan con el TVT. La eosinofilia, al ser la variable más frecuentemente observada, puede considerarse como un signo paraneoplásico en el TVT. El efecto mielosupresor de la vincristina no se refleja en la respuesta eritroide con la misma magnitud respecto a otras líneas celulares y afecta selectivamente la serie neutrofílica produciendo leucopenias con neutropenias severas. Los valores hematológicos basales y los controles durante el tratamiento son elementos de juicio importantes para las decisiones terapéuticas y para el control post tratamiento.

BIBLIOGRAFÍA:

- 1-Ganguly, B., Das, U., Das, A. (2013). Canine transmissible venereal tumour: a review. *Vet. Com. Oncol.*: 14(1): 1-12. DOI: 10.1111/vco.12060.
- 2-Purohit, G. (2009). Canine transmissible venereal tumor. A review. *Int. J. Vet. Med.* 6(1).
- 3-Sain, M., Sharma, V. (2013). *Catharanthus roseus* (An anticancerous drug yielding plant). A review of potential therapeutic properties. *Int. J. Pure App. Biosci.*: 1(6): 139-142.

PT7- REGIONES ORGANIZADORAS NUCLEOLARES EN EL PRONÓSTICO DEL TUMOR VENÉREO TRANSMISIBLE CANINO

C. Maffrand⁽¹⁾; A. Benzon⁽¹⁾; A. Alcoba⁽¹⁾; S. Babini⁽¹⁾; N. Schlee⁽¹⁾; M. Fiorimanti⁽¹⁾; C. Merkis⁽¹⁾.

⁽¹⁾Universidad Nacional de Río Cuarto. E-mail: cmaffrand@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

El tumor venéreo transmisible (TVT) pertenece al grupo de tumores denominados de células redondas que afecta a caninos, coyotes, zorros y lobos. El diagnóstico de TVT se realiza por observación clínica, citológica e histopatológica. Para contribuir en el pronóstico de las neoplasias y predicción de la respuesta al tratamiento en función de su malignidad se utilizan marcadores de proliferación como el recuento de figuras mitóticas y las Regiones Organizadoras Nucleolares Argirófilas (AgNORs). Estas últimas son proteínas implicadas en la transcripción y procesamiento del ARNr^(1,3).

Objetivo: determinar el valor pronóstico de los AgNORs en factores relacionados con el comportamiento y tratamiento del TVT.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio observacional en 20 caninos con diagnóstico de TVT de presentación espontánea que fueron tratados con sulfato de vincristina (0.025 mg/kg). Se evaluó la respuesta al tratamiento y se tomaron muestras citológicas y biopsias previo a cada aplicación. En 17 pacientes, se evaluó la proliferación celular con técnicas de AgNORs según los protocolos de Howell y Black (1980) y Plotón, *et al.*, (1994), respectivamente. Se contaron 200 células neoplásicas en forma manual e individual, teniendo en cuenta la cantidad y distribución de puntos marrones que se encontraban en el núcleo de la célula de TVT. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y un test de Tukey *a posteriori* para detectar las diferencias estadísticamente significativas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La técnica de AgNOR presentó puntos críticos como son el tipo de fijador utilizado y el tiempo de la reacción que es dependiente de la temperatura y que osciló entre 20 y 60 min. La cantidad de AgNOR en muestras histopatológicas varió de 0 a 16 puntos por célula, la mayoría de las veces distribuidos de forma aislada. Las formas eran redondeadas o ligeramente irregulares, ubicadas en el interior del núcleo, alrededor del nucléolo o tiñéndolo por completo. El 85% de los animales presentó buena respuesta al tratamiento, con remisión total del tumor luego de 3 a 7 aplicaciones de vincristina. El 15% de los pacientes mostró resistencia al tratamiento. En ambos casos el número de AgNOR fue superior a lo observado por otros autores, lo que podría relacionarse a los criterios usados en cuanto al recuento de las partículas. Los números de AgNOR se presentan en la tabla I.

Tabla I: números de AgNORs en animales con respuesta y sin respuesta al tratamiento previo y posterior al mismo.		
Animales tratados	N° de AgNOR pretratamiento	N° de AgNOR postratamiento
Con respuesta (n=14)	3,1 ± 1,3	1,4 ± 0,8
Sin respuesta (n=3)	4,1 ± 1,6	5,3 ± 2,3

Estos resultados fueron estadísticamente significativos ($p \leq 0.0002$) y permitirían establecer pautas para evaluar el pronóstico y evolución del TVT canino, como se realiza en otras neoplasias. Sin embargo, el número de AgNOR observado en células de TVT es superior a los encontrados en muchas neoplasias malignas por lo que el número estaría mas asociado a una mayor tasa de proliferación celular que a un comportamiento maligno del tumor. Se podría postular, que la alta presencia de proteínas argirófilas en el TVT, se asociaría a células en proliferación celular con una cinética más corta del ciclo celular, que produciría mayor cantidad de ribosomas, proteínas y AgNORs por unidad de tiempo durante la interfase. En la mayoría de las tinciones se observaron todos los casos posibles de distribución de las partículas de AgNOR según los caracteriza Santos *et al.*, (2011), con predominio de la distribución aislada y difusa, cubriendo todo el nucléolo, excepto en uno de los tumores resistentes que presentó una distribución en cadena y en la periferia del núcleo. Por lo que no se observaron patrones que permitan sospechar la naturaleza de mayor o menor agresividad del tumor. Los resultados obtenidos en las tinciones citológicas, permitieron hacer un análisis de los agregados, resultando una técnica más rápida que trabajar con cortes histológicos y permitirían usar la técnica de tinción de plata para la determinación de los AgNORs en la evaluación del paciente. Tienen como desventaja que con el avance del tratamiento, el número de células neoplásicas en los extendidos se reduce y dificulta un conteo celular representativo.

CONCLUSIÓN

El mayor número de AgNORs observados en fase progresiva de TVT comparado con algunos tumores malignos, indicaría que está relacionado a la velocidad del ciclo celular más que al comportamiento biológico. Su determinación temprana, luego de iniciada la quimioterapia, es de utilidad pronóstica para seguir el tratamiento y evolución del TVT, permitiendo al clínico tomar decisiones en relación a modificaciones en la terapia o uso de terapias alternativas. Sin embargo, es fundamental encontrar un método de determinación de AgNOR que permita la estandarización, para poder obtener resultados comparables.

BIBLIOGRAFÍA

- 1- Rodríguez, L., Perales, R., Chavera, A., Gavidia, C., Díaz, D. (2010). Caracterización de las regiones organizadoras nucleolares en las células del tumor venéreo transmisible en caninos: estudio histoquímico. *Rev. Inv. Vet. Perú*: 21(1): 48-53
- 2- Santos, F.; Moro, L.; Cassali, G.; Paixao, T.; Campos, P.; Silva, S.; Vasconcelos, A. (2011). Marcadores de proliferación celular no tumor venéreo transmissible canino transplantado. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*: 63(6).
- 3- Vargas González, D. (2008). Regiones organizadoras nucleolares como indicadores de pronóstico en tumores de células redondas del canino. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias; Escuela de Ciencias Veterinarias.

PT8- ELECTROLITOS Y GASES EN SANGRE EN CANINOS Y FELINOS QUE INGRESAN AL SERVICIO DE URGENCIA Y CUIDADOS INTENSIVOS DE LA CLINICA VETERINARIA

J. Galvez⁽¹⁾, J. Mouli⁽²⁾, A. Larsen⁽³⁾ y E. Mortola ⁽³⁾

⁽¹⁾Especialización en Diagnóstico Veterinario de Laboratorio, ⁽²⁾Hospital de Pequeños Animales y ⁽³⁾Cátedra de Inmunología Veterinaria de la Facultad de Cs. Veterinarias de UNLP; Calle 60 y 118. 1900 – La Plata. mortola@fcv.unlp.edu.ar

Introducción. El mantenimiento de las concentraciones normales de electrolitos y gases en sangre es fundamental en pacientes que ingresan a la urgencia clínica. Los trastornos de estos parámetros, por diversas patologías, afectan a varios órganos, incluyendo el sistema nervioso, cardíaco y músculo esquelético. Las alteraciones electrolíticas y de ácido/base son habituales, y tienen una importancia significativa en la morbilidad y mortalidad de casos clínicos, sino se reconocen o si el tratamiento es inadecuado. La corrección oportuna de estas alteraciones causa un beneficio más inmediato que el establecer un diagnóstico específico, aunque ambos son necesarios. La mayoría de las alteraciones en el volumen del fluido extracelular van acompañadas de alteraciones en la composición del plasma, esto no se debe únicamente a las pérdidas de iones que contribuyen al problema inicial, sino que la defensa del riñón frente al agotamiento del volumen, altera la capacidad renal para regular la composición del plasma. Por ello, los niveles de los principales electrolitos: potasio, sodio, calcio, magnesio y cloro están estrechamente relacionados por la acción de hormonas y por la función renal, que se ven afectados por diversas patologías. El análisis de gases sanguíneos, incluye la determinación de pH y de los gases implicados en el equilibrio ácido/base y proporcionan información de utilidad para identificar y caracterizar la alteración ácido/base; evaluar su gravedad; identificar el proceso patológico causante de la alteración ácido/base; guiar en la elección de medidas terapéuticas adecuadas y monitorizar la respuesta terapéutica del paciente. La aparición de analizadores de gases de características adaptables a las clínicas veterinarias, ha permitido que estas mediciones se empleen cada vez más en la práctica habitual y puedan construir un instrumento muy útil para el clínico si se realizan e interpretan correctamente. El presente trabajo tiene por finalidad medir los electrolitos y gases en sangre en caninos y felinos que ingresaron al servicio de urgencia y cuidados intensivos de la clínica veterinaria; con la finalidad de realizar un reporte de diferentes patologías clínicas y sus trastornos en los parámetros mencionados. Esto permitirá no solo conocer datos de importancia para la implementación de corrección, sino también concientizar a los médicos veterinarios sobre la importancia de estas mediciones.

Materiales y métodos. Muestras de sangre provenientes de pacientes que ingresaron al servicio de urgencia y cuidados intensivos de la Clínica Veterinaria Del Sol de la ciudad de La Plata, durante los años 2014 y 2015. Para las mediciones se empleó el Analizador de Cuidado Crítico OPTI CCA-TS con dos Casette: E-Cl y E-Ca.

Resultados y Discusión. Caninos: el 46% de los animales fueron diagnosticados con Gastroenteritis Hemorrágica (GEH); el 23% con insuficiencia Renal Crónica (IRC); el 18% con Dilatación Torsión Vólvulo Gástrica (DTVG) y el 13% con

politraumatismos (PT). **IRC:** El 64% de los pacientes presentó pH por debajo de lo normal, el 18% pH dentro del valor normal pero al límite superior y el 18% presentaron pH por encima de lo normal. La mayoría de pacientes presentaron acidosis y el 100% presentó hipocalcemia. **GEH:** El 45% presentó disminución del pH; el 45% presentó el pH dentro del valor normal y el 10% con pH por encima de lo normal. Si bien la mayoría de pacientes presentó acidosis, la alcalosis y los valores cercanos a la alcalosis son en respuesta compensatoria o a alteraciones mixtas. El 82% presentó hipernatremia y el 18% con valores de sodio normales. El 50% se encontró hipopotasémico; el 45% dentro del rango normal y el 5% hiperpotasémico, esto nos sugiere desorden electrolítico que cursa con deshidratación. **DTVG:** El 67% presentó disminución del pH; el 11% presentó pH normal y el 22% con pH por encima de lo normal. Si bien la mayoría de pacientes presenta acidosis, la alcalosis y los valores cercanos a la alcalosis son en respuesta compensatoria o a alteraciones mixtas. El 90% de los pacientes presentó hipernatremia e hipopotasemia. **PT:** El 50% presentó una acidosis metabólica descompensada; el 17% acidosis metabólica compensada; el 17% pH normal pero con hipernatremia e hipopotasemia y el 16% pH normal con hipernatremia e hipocalcemia. **Felinos:** el 62% de los animales fueron diagnosticados con enfermedad del Tracto Urinario Inferior (FLUTD) y el 38% por Insuficiencia Renal Crónica (IRC). **FLUTD:** El 100% reportó una disminución del pH y el 88% hiperpotasemia. El 62% presentó acidosis metabólica descompensada y el 25% compensada con pH disminuido, El 13% presentó una alteración mixta. **IRC:** el 100% reportó una disminución del pH y el 60% reportó una depleción del potasio, e hipernatremia. Este estudio resume las alteraciones de gases y electrolitos de pacientes a los cuales agrupamos por diagnóstico de ingreso. El alcance de este estudio es orientativo y se debe tener claro que cada paciente es único y su respuesta varía para compensar su medio interno alterado. Si bien es de esperar cambios en ciertas patologías como por ejemplo hipocalcemia en GEH o la hipercalemia en FLUTD, notamos que los pacientes analizados no siempre responden a un resultado esperado, por ello reafirmamos la complejidad del medio interno y la comprensión del mismo para la mejor atención a nuestros pacientes.

Bibliografía.

- 1-Villiers, E., & Blackwood, L. (2005). *BSAVA Manual of Canine and Feline Clinical Psychology*. Inglaterra: BSAVA.
- 2-Cerón Madrigal, J. J. (2013). *Análisis Clínicos en Pequeños Animales*. Buenos Aires: Intermedica.
- 3-Willard, M., & Tvedten, H. (2004). *Diagnóstico Clinicopatológico Práctico en los Pequeños Animales* (Cuarta ed.). Buenos Aires: Intermedica.

PT9- CASUISTICA DE PLANTAS TOXICAS EN EL NORESTE ARGENTINO, DURANTE EL PERIODO 2005 A 2015

P. Thompson¹; S.G. Caspe²; E. J.A.Späth³; L.A. Cholich⁴; J.M. Sala²

¹Actividad privada. ²EEA INTA Mercedes. ³EEA INTA Balcarce. ⁴Facultad de Ciencias Veterinarias-UNNE.

✉ e-mail: sala.juan@inta.gob.ar

INTRODUCCION

La región NEA de Argentina se identifica mayormente por actividades agropecuarias como la cría y recría bovina y ovina que se realiza casi exclusivamente sobre campos naturales en donde comúnmente crecen distintos tipos de plantas tóxicas que forman parte de la biodiversidad de los pastizales subtropicales.

La falta de conocimiento sobre las distintas plantas tóxicas que se encuentran en la región provoca que muchos casos no puedan ser diagnosticados o se confundan con otra etiología, haciendo difícil estimar las pérdidas económicas que producen, aunque sin duda el impacto real se encuentra subestimado (Caspe et.al 2008).

El objetivo de este trabajo es informar sobre las plantas tóxicas como causales de enfermedad, diagnosticadas en la EEA INTA Mercedes entre los años 2005 y 2015.

MATERIALES Y METODOS

Los casos que ingresan al SEDISA (Servicio de Diagnostico de Sanidad Animal) de la EEA INTA Mercedes se registran con un numero de protocolo único y constan de los datos del solicitante, de la muestra y de la población animal de la que proviene, incluyendo los resultados parciales de cada etapa del diagnóstico, inspección clínica, estudios *post mortem*, resultados de los distintos laboratorios e informe final. La información contenida en estos protocolos es almacenada en ficheros de papel los cuales se vuelcan a una base de datos desarrollada en Microsoft® Office Access 2003, denominada EpiDiagno que permite la carga de datos mediante un formulario *ad hoc* y a través de distintas consultas realiza un análisis descriptivo con generación de tablas y gráficos. Un módulo específico permite la exportación de datos para su vinculación y visualización con ArcMap (ESRI®ArcMap™ 9.2). Cada caso está constituido por una muestra o conjunto de muestras (biológicas o no biológicas) obtenidas de un animal o grupo de animales pertenecientes a un establecimiento, las cuales son remitidas para su estudio con el fin de obtener, confirmar o descartar un diagnóstico. En estos casos se realiza la visita al campo para el reconocimiento botánico de especies tóxicas.

RESULTADOS

En el SEDISA de la EEA INTA Mercedes desde 2005 a 2015 se diagnosticaron 38 casos de intoxicación en bovinos por el consumo de plantas tóxicas; los cuales provenían de 14 departamentos de las provincias de Corrientes, Misiones y Entre Ríos (Tabla 1), representando un 0,8% del total de casos registrados. El 89,5% de los casos pertenecieron a la provincia Corrientes, el 7,9% a Misiones y el 2,6% a Entre Ríos.

La mayoría de estas plantas presentan principios tóxicos bastante específicos que afectan funciones digestivas, cardíacas, renales o nerviosas (Reit-Correa et.al, 2007). En los casos registrados se identificaron plantas hepatotóxicas agudas y crónicas, enterotóxicas, miotóxicas, cardiotoxicas y nefrotóxicas, dentro de las cuales algunas se diagnostican con mayor frecuencia en la zona (Tabla 2) causando importantes pérdidas económicas con un total registrado de 446 animales muertos.

Tabla 1: Número de casos distribuidos por provincia y departamento

Provincia	Departamento	Casos	%
Corrientes	Bella Vista	10	26,3
	Mercedes	9	23,7
	Curuzú Cuatiá	5	13,6
	Concepción	2	5,3
	San Martín	2	5,3
	Santo Tome	1	2,6
	San Roque	1	2,6
	P. de los Libres	1	2,6
	Monte Caseros	1	2,6
	Ituzaingo	1	2,6
	Esquina	1	2,6
	Apóstoles	1	2,6
	Concepción	2	2,6
Misiones			
Entre Ríos	La Paz	1	2,6

Tabla 2: Especies identificadas y frecuencia de los casos presentados en el periodo 2005-2015

Nombre Científico	Nombre Vulgar	Casos	%
<i>Cestrum parqui</i>	Duraznillo negro	11	29
<i>Senecio sp</i>	Maria mole	8	21
<i>Senna occidentalis</i>	Cafetillo	5	13
<i>Bacharis coridifolia</i>	Mio mio	5	13
<i>Lantana camara</i>	Bandera española	4	11
<i>Asclepias mellodora</i>	Lecherona	2	5
<i>Amaranthus sp</i>	Yuyo colorado	2	5
<i>Wedelia glauca</i>	Sunchillo	1	3

DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

Las plantas tóxicas constituyen en nuestra región una fuente de pérdidas de producción en nuestra ganadería y una constante preocupación en los médicos veterinarios.

Los resultados obtenidos concuerdan con la amplia distribución de *Cestrum parqui*, *Senecios sp*, y *Bascharis coridifolia* en la mayoría de las provincias del Centro-Norte argentino (Cabrera et. al, 1999; Deble, 2012) y *Senna occidentalis* en el Norte del país (Scarpa, 2004), siendo estas cuatro plantas las que mayor cantidad de casos presentaron en la zona.

Frecuentemente las mortandades causadas por estas plantas remiten solas cuando los animales dejan de tener contacto con ellas terminando con el problema sin ser diagnosticado. Otras veces los tratamientos sintomáticos a base de antibióticos o antiinflamatorios que suelen utilizarse en la clínica diaria nos hacen pensar que funcionaron, cuando en realidad los animales que se recuperan lo hacen por no haber ingerido la cantidad suficiente de toxinas y no por el tratamiento en sí.

Este trabajo demuestra la importancia de las plantas tóxicas como causales de enfermedad y cuáles de ellas se encuentran en nuestra región.

BIBLIOGRAFIA

- ✓ CABRERA, A. L., FREIRE, S. E. & ARIZA ESPINAR, L. (1999). Tribu VIII. Senecioneae. Tribu VIII bis. Liabaeae. A.T. Hunziker. Fl. Fanerog. Argent. 62, 1-180.
- ✓ CASPE G.S, BENDERSKY D, BARBERA P. (2008). Plantas tóxicas de la provincia de Corrientes. SERIE TECNICA N-43 Ediciones INTA. 3, 5, 6, 14, 20. ISSN 0327-3075.
- ✓ DEBLE, L. P. (2012). Studies in Bachharidinae (Asteraceae: Astereae). I: Lanugothamnus a new genus from South America. Balduinia. 37, 2-25.
- ✓ Riet Correa, F; Schild, AL; Lemos, R.A.A.; Borges; J.R. 2007. Doenças de Ruminantes e Equídeos. 3ª Edição. Vol 1 y 2.
- ✓ SCARPA, G. F. (2004). Medicinal plants used by the Criollos of Northwestern Argentine Chaco. J. Ethno-Pharmacol. 91, 115-135

PT10- ALTERACIONES DE LOS FACTORES PLASMATICOS Y SU IMPLICANCIA EN LAS PRUEBAS HEMOSTATICAS BASICAS EN PACIENTES CON TRIADA LETAL

MS Esarte ¹; FM Baratcaba ²; M Pérez ¹; AG Márquez ¹; D Calvo ³; S Fuensalida ³; E Falzoni ⁴; VS Micciullo ¹
marcesarte@hotmail.com

(¹) Area Patología Clínica y Enfermedades Médicas. Facultad de Ciencias Veterinarias. UBA

(²) Estudiante Facultad de Ciencias Veterinarias UBA.

(³) Servicio de Anestesiología del Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Veterinarias. UBA.

(⁴) Cátedra de Enfermedades Infecciosas. Facultad de Ciencias Veterinarias. UBA

INTRODUCCION: La tríada letal es una entidad patológica que se caracteriza por presentarse en pacientes con shock hipovolémico, acidosis respiratoria e hipotermia. Esto desencadena una coagulopatía severa que de no revertirse todas ellas produce la muerte del paciente por hemorragia masiva. El objetivo de este trabajo es determinar si frente a hipotermia, acidosis y shock hipovolémico se produce una inactivación de los factores plasmáticos de la coagulación que se vea reflejada de manera precoz en el screening hemostático básico para poder revertir de esta manera el cuadro y evitar la muerte del paciente.

MATERIALES Y METODOS: Se trabajó sobre 17 caninos, de ambos sexos y diferentes razas que ingresaron al Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Veterinarias UBA. Se evaluó el medio interno comprobándose que estaban en acidosis respiratoria, temperatura inferior a 38°C y shock hipovolémico por diferentes patologías. Se extrajo sangre con anticoagulante de citrato de sodio a razón de 2 gotas por cm³ de sangre para evaluar el tiempo de protrombina (TP), tiempo parcial de tromboplastina activado con kaolín (KPTT), tiempo de tromboplastina (TT), dosaje de factores y con anticoagulante de EDTA para hemograma y recuento plaquetario. Para las pruebas de coagulación se separó el plasma del paquete eritrocitario inmediatamente de obtenida la muestra y se efectuó una doble centrifugación a 3.500 rpm durante 15 minutos. Se congeló el plasma a -10°C hasta el momento de efectuarse todas las pruebas hemostáticas. Se implementó el tratamiento específico en todos los casos para corregir la hipotermia, la acidosis respiratoria y el shock hipovolémico y se volvieron a tomar muestras para controlar las pruebas de coagulación y dosar factores. Se realizó un estudio estadístico descriptivo y se utilizó el test no paramétrico de Wilcoxon (Mann-Whitney).

RESULTADOS: Del total de los pacientes evaluados, el 41,2 % (n= 7 /17) de los pacientes presentaban aumento del TP, el 52,9% (n= 9/17) del KPTT, el 29,4% (n= 5 /17) del TT. El 29.4% (n= 5/17) tenían disminución en la concentración de fibrinógeno, el 17.6 % (n= 3/17) de factor II, el 23,5% (n=4/17) de factor V, el 13,1% (n= 2

/17) del factor VII, el 82,3 % (n=14 /17) del factor VIII, el 94,1% (n= 16/17) del factor IX, el 29,4 % (n= 5 /17) del factor X. Se estudiaron las diferencias entre los valores hemostáticos de los pacientes en acidosis e hipotermia respecto de los controles. Hubo diferencias significativas en el TP (p=0,01), KPTT (p=0,0004), FVIII (p=<0,001) y FIX (p<0,001). Una vez efectuado el tratamiento específico para la hipotermia, acidosis y el shock se tomaron nuevas muestras para evaluar la hemostasia. Las mismas se habían normalizado.

DISCUSION: De las tres pruebas básicas que evalúan la hemostasia, las dos que manifestaron alteraciones de manera precoz fueron el TP y el KPTT. Si bien el factor VII se vio comprometido en un porcentaje bajo de pacientes, su compromiso se vio reflejado en el alargamiento del TP ya que dicho factor tiene una vida media muy corta y es el único que se evalúa en dicha prueba. La marcada inactivación de los factores VIII y IX produjo el alargamiento del KPTT. El TT no se vio comprometido ya que los factores evaluados por este test sufrieron disminuciones en su porcentaje de actividad leves, compensándose la funcionalidad de unos con las de los otros y de esta manera no reflejándose en el TT.

BIBLIOGRAFIA:

1. **JAIN NC:** Schalm's Veterinary Hematology, ed.5. Philadelphia, Lea and Febiger. (2000).
2. **GRUPO COOPERATIVO ARGENTINO DE HEMOSTASIA Y TROMBOSIS:** Fundamentos para el manejo práctico en el laboratorio de hemostasia. 5-6-9. 2003.
3. **COUTO CG.** Clinical approach to the bleeding patient, Vet Med 94: 450. 1999.
4. **RICHARD W. NELSON, C GUILLERMO COUTO.** Medicina Interna de Pequeños Animales. 87: 1250. 2010

PT11- ESPONGIOSIS CEREBELAR Y CEREBRAL CONGÉNITA EN TERNEROS ASOCIADA AL CONSUMO DE *STENOCARPELLA MAYDIS*

J. Cora Ibarra¹, I. Llada¹, J. Migliavaca¹, M. Mazzanti¹, L. Olmos¹, L. Lischinsky¹, Y. Hecker², A. Odeón¹, G. Cantón¹, E. Odriozola^{1*}
¹INTA EEA Balcarce. ²CONICET. *odriozola.ernesto@inta.gob.ar

Introducción

La diplodiosis es una micotoxicosis producida por el hongo *Stenocarpella* (= *Diplodia*) *maydis*, el cual afecta los cultivos de maíz (*Zea mays*) ocasionando la "podredumbre de la espiga". Se han reportado casos de intoxicación en bovinos (Odriozola *et al.*, 2005) y ovinos (Kellerman *et al.*, 1991) que consumen rastrojos o maíz en pie durante el otoño e invierno con mayor predisposición los años con precipitaciones por encima de la media anual, manifestando signología nerviosa entre los 7-15 días de entrar a consumir el forraje. Si bien esta signología es la detectada más frecuentemente, algunos trabajos mencionan el aborto de ovinos consumiendo maíces infectados durante el segundo y tercer tercio de la gestación (Kellerman *et al.*, 1991, Prozesky *et al.*, 1994). Tanto en animales adultos afectados como en casos de mortalidad perinatal, se describe una espongiosis de la sustancia blanca cerebelar y cerebral (Kellerman *et al.*, 1991, Prozesky *et al.*, 1994, Odriozola *et al.*, 2005). El objetivo del presente trabajo es describir 3 episodios de síndrome nervioso y mortalidad perinatal en bovinos de la región central de Argentina consumiendo maíces infectados con *S. maydis*, diagnosticados por el Servicio de Diagnóstico Veterinario Especializado (SDVE) del INTA EEA Balcarce.

Materiales y métodos

Se reportaron 3 casos ocurridos en rodeos de bovinos para carne durante los meses de junio y julio del 2016: Caso A, en Caferata (Santa Fe); Caso B, en Ayacucho (Buenos Aires) y Caso C, en Daireaux (Buenos Aires). Se recopiló la información anamnéstica y las características clínicas de los animales de estos rodeos, y se examinaron 5 terneros nacidos con signología nerviosa (2 del caso A, 2 del caso B y 1 del caso C). Se procedió a la examinación *post mortem* y se extrajeron muestras de tejidos y fluidos: pulmón y contenido de abomaso para cultivos bacteriológicos (en atmósfera con un 10% de CO₂ y microaerofilia) y para cultivo de *T. foetus*; bazo y cerebro para aislamiento viral; improntas de riñón, pulmón y humor acuoso para detección de *Leptospira* spp. por IFD; cerebro para PCR para *Neospora caninum*, fluido de cavidades para seroneutralización viral (Herpesvirus bovino y virus de la Diarrea Viral Bovina) y detección de anticuerpos a *N. caninum* por IFI. También se obtuvieron tejidos que fueron fijados en formol *bufferado* al 10% para análisis histopatológico de rutina y tinción de Luxol Fast Blue (LFB) para observar la mielinización de tejido encefálico. También se analizaron muestras de espigas del maíz consumido en los rodeos para detectar la presencia de fitopatógenos.

Resultados

Los rodeos afectados se componían de entre 300 y 900 vacas que consumían rastrojos de maíz o maíces en pie con presencia de espigas en las que se identificó *S. maydis*. En el caso A y en el caso C, 18/300 y 4/350 vacas respectivamente, manifestaron ataxia, hipermetría, caídas de forma repentina, xifosis, cabeza flexionada hacia ventral y estupor. De esas afectadas, 2 y 1 murieron en cada caso, respectivamente. En el caso A, habían nacido 7 terneros que manifestaron opistótono, imposibilidad para caminar y muerte entre 24 y 72hs. En el caso B, las vacas que pastoreaban el maíz no presentaron signología clínica evidente, aunque parieron 6 terneros que tenían dificultad en la marcha, imposibilidad para incorporarse y temblores. En el caso C, habían parido 11 terneros, algunos de ellos muertos y otros que manifestaban signología nerviosa: dificultad para incorporarse. En todos los casos, recién comenzaba la parición y todos los terneros nacidos estaban a término de su gestación. Durante la necropsia de los terneros afectados de los casos A y B no se observaron lesiones evidentes. En el caso C se identificó un hematoma meníngeo en cerebelo, secundario a una aparente herniación del mismo. No se identificaron patógenos de importancia clínica en el análisis bacteriológico y virológico realizado sobre los especímenes analizados. Se amplificó ADN de *N. caninum* del cerebro de uno de los terneros del Caso A. En todos los especímenes analizados se visualizó espongiosis

moderada a severa en sustancia blanca cerebelar. En algunos terneros, la espongiosis también se presentó en la sustancia blanca de corteza cerebral y edema perivascular. Además, se corroboró desmielinización de la sustancia blanca cerebelar en los especímenes analizados utilizando la tinción de LFB.

Discusión y conclusiones

Si bien Kellerman *et al.* (1991) describe casos de mortalidad perinatal asociada al consumo de *S. maydis* en bovinos de Sudáfrica, su trabajo solo reproduce experimentalmente la enfermedad en ovinos. Este reporte describe por primera vez detalladamente cuadros espontáneos de diplodiosis asociada a mortalidad perinatal en bovinos. Los hallazgos clínicos y patológicos concuerdan con los descriptos en bovinos adultos (Odriozola *et al.*, 2005) como en corderos con muerte perinatal (Kellerman *et al.*, 1991; Prozesky *et al.*, 1994). Además se corroboró la presencia de infección con *S. maydis* en los maíces que los vientres consumían.

Se descartó la presencia de otros patógenos asociados a mortalidad perinatal. Si bien se corroboró transmisión vertical de *N. caninum* en uno de los terneros analizados, no se observaron lesiones compatibles con esta enfermedad.

Teniendo en cuenta la presentación clínica en terneros sin verse afectadas sus madres, se corroboraría que las toxinas producidas por *S. maydis* (Rahman *et al.*, 2002) tienen la capacidad de atravesar la placenta y un particular tropismo hacia el tejido encefálico fetal.

Este trabajo demuestra la importancia de incluir a la diplodiosis como diagnóstico diferencial de pérdidas reproductivas cuando los animales consuman maíces diferidos o rastrojos de este cultivo. Se necesitan más estudios para evaluar la sensibilidad del bovino a esta micotoxicosis, sobre todo teniendo en cuenta que estos recursos forrajeros son ampliamente utilizados en la región.

Bibliografía

- Kellerman *et al.* (1991). Onderstepoort J Vet Res 58, 297.
- Prozesky *et al.* (1994). Onderstepoort J Vet Res 61, 247.
- Rahman *et al.* (2002). Ecotoxicol Environ Saf 52, 267.
- Odriozola *et al.* (2005). N Z Vet J 53, 160.

PT12- EFECTO DE LA DEFICIENCIA DE Zn SOBRE LAS GANANCIAS DE PESO EN TERNEROS

EM Galarza ¹, DE Rosa ¹, RM Lizarraga ¹ L, Cámpora ¹ GA, Mattioli ¹

¹Laboratorio de Nutrición Mineral y Fisiología Reproductiva, Fac. Cs. Veterinarias, Univ. Nac. La Plata. mattioli.fcv.unlp@gmail.com

Introducción

El Zn es un micromineral esencial para los bovinos y su carencia genera consecuencias difíciles de detectar debido a su carácter subclínico. El estatus de Zn puede estimarse por sus concentraciones en plasma, aunque existen discrepancias respecto a su valor diagnóstico y a los rangos de normalidad aceptados. Se considera que el rango normal de zincemia en bovinos es entre 90 y 140 µg/dL, con un rango de marginalidad entre 80 y 90 µg/dL y se consideran valores de carencia a aquellos menores a 80 µg/dL (Kincaid, 1999). Suttle (2010) propone un rango marginal de sólo 40 a 60 µg/dL. La Cuenca Deprimida del Río Salado (CDS), Pcia de Buenos Aires, es un área donde se generan anualmente 2 millones de terneros sobre un sistema pastoril extensivo y existen antecedentes de bajos niveles plasmáticos en varios Partidos (Ramírez y col, 1998). En ese contexto se evaluó el efecto de la suplementación con Zn sobre las ganancias de peso en terneros.

Materiales y métodos

En un lote de terneros Aberdeen Angus al pié de la madre, de entre 3 y 7 meses, se generaron dos grupos de 20 animales, homogéneos en peso, sexo y edad y se realizó un ensayo de suplementación con Zn inyectable. El Grupo tratado (GT) recibió una dosis parenteral de Zn (1 mg/Kg) cada 40 días hasta el destete. El Grupo Control (GC) permaneció sin tratamiento. Previo a cada tratamiento se registraron los pesos y se tomaron muestras de sangre para estudio hematológico completo y para la medir las concentraciones de Zn. Los dos grupos permanecieron al pié de la madre y con control sanitario de rutina que incluyó desparasitaciones y tratamientos con Cu. El diseño estadístico fue completamente aleatorio, y se analizó con un modelo mixto con medidas repetidas en el tiempo con el programa estadístico SAS (9.1). La separación de medias se realizó mediante el procedimiento SLICE. Se consideraron diferencias significativas aquellas < a 0,05 y una tendencia < a 0,1 para efectos principales.

Resultados

El tratamiento no generó diferencias en los parámetros hematológicos. Curiosamente, tampoco existieron en ningún muestreo diferencias en los niveles de zincemia, pero sí se diferenciaron en las ganancias de peso (Tabla 1). **Tabla 1:** Valores medios (±DS) de zincemia y ganancias diarias de peso (GDP) en terneros suplementados (GT) y control (GC).

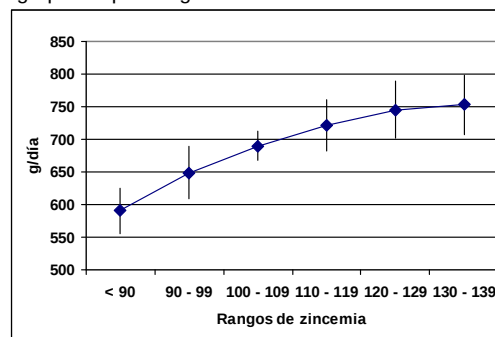
Muestreo	Zincemia (µg/dl)		GDP (g/día)	
	GT	GC	GT	GC
11/11/2015	89	94	896	834
	(± 14)	(± 7)	(± 176)	(± 98)
22/12/2015	124	115	759	739
	(± 17)	(± 17)	(± 93)	(± 155)
01/02/2016	116	107	547	628
	(± 16)	(± 15)	(± 129)	(± 147)
13/03/2016	128	108	833 a	688 b
	(± 23)	(± 18)	(± 78)	(± 165)

a-b: diferencias significativas (p< 0.05).

Las muestras compuestas de forraje aportaron 17ppm sobre base seca, mientras que el agua de bebida fue de excelente calidad para el consumo bovino, con una concentración de Zn de 0.1 mg/L.

Si bien los grupos no se diferenciaron significativamente en sus valores de zincemia, existió una alta correlación entre zincemias y GDP (r: 0.67). Por otro lado, al ordenar las zincemias en rangos de 10 µg y asociarlos a las ganancias de peso queda graficada esta asociación (Gráfico 1)

Gráfico 1: Valores medios de ganancias diarias de peso agrupadas por rangos de zincemia.



Discusión

El tratamiento demostró la existencia de una carencia subclínica de Zn, aunque las zincemias no tuvieron la sensibilidad suficiente para registrarlo. Esto coincide con lo sugerido por Kincaid (1999). Sin embargo, las zincemias demostraron una clara asociación con las ganancias de peso, sugiriendo que serían un buen indicador de estatus de Zn, aunque sin sensibilidad suficiente cuando se hacen tratamientos discontinuos como en el presente ensayo. Otro motivo de discrepancia serían los rangos de normalidad y marginalidad propuestos, considerándose atinado extenderlo hasta 120 µg/dl en animales en crecimiento.

Conclusiones

La carencia de Zn en terneros durante el período de cría afecta su ritmo de crecimiento y existen razones para recomendar su suplementación. Para el diagnóstico de rodeo debería considerarse un rango de riesgo más elevado que el actualmente en vigencia, especialmente para animales en crecimiento.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) Ramírez CE, Mattioli GA, Giuliodori MJ, Yano H, Matsui I (1998). Deficiencia de Zn en Bovinos de Cría de la Provincia de Buenos Aires Veterinaria Argentina. 1998; 15 (142): 114-118.
- 2) Kincaid RL. Assesment of trace minerals of ruminants: A review. Procceding of the American Society of Animal Science 1999; 1-10.
- 3) Suttle, NF. The Mineral Nutrition Of Livestock 4rd Ed. Chapter 16: Zinc. Pp: 426-458. 2010. CABI Head office. Oxfordshire, UK.

PT13- MAL DEL PIQUILLÍN: REPRODUCCIÓN EXPERIMENTAL EN POLLOS PARRILLEROS

G. Jáuregui¹, E. Redondo^{1,2}, D. Cristos³, A. Salvat¹, F. Delgado^{1,4}

¹Inst. de Patobiología, CICVyA, INTA Castelar, Bs As, Argentina., ²Conicet, Argentina; ³Inst. de Tecnología de Alimentos, CIA, INTA Castelar, Bs. As., Argentina, ⁴Cat. de Patología Animal, USal, Pilar, Bs As.Argentina. jauregui.gloria@inta.gob.ar

INTRODUCCIÓN

Condalia microphylla, comunmente llamado Piquillín, es un arbusto que crece en las regiones áridas de casi toda la República Argentina. Si bien su madera se utiliza para leña y sus frutos para la realización de arrope, no es una especie forrajera. A pesar de ello, los animales consumen los rebrotes y corteza del Piquillín cuando escasea el alimento o se dan ciertas características ambientales. El Mal del Piquillín ha sido previamente descripto, reproduciéndose la intoxicación administrando corteza de piquillín a bovinos, porcinos y cobayos. En todos estos casos las lesiones microscópicas que se hallaron fueron deformación de las vainas de mielina y degeneración axonal en la médula espinal. Los animales presentaron signos neurológicos como incoordinación, ataxia y paresia. Se observó afección inicial de los miembros posteriores, evidenciado por una flexión exagerada de la articulación metatarso falangeana, progresando hacia los miembros anteriores cuando continuó el consumo.

Aunque tanto especies monogástricas como rumiantes son sensibles a la intoxicación, poco se sabe del efecto del principio activo sobre las aves de corral. Estas podrían ingerir porciones de la planta cuando son criadas bajo condiciones de traspaso. A su vez, si bien el cobayo podría utilizarse como modelo experimental, contar con un modelo más simple y económico sería de utilidad en el estudio de este trastorno. Los objetivos de este trabajo fueron evaluar la susceptibilidad del pollo parrillero al Mal del Piquillín y el cuadro clínico asociado a su consumo, y determinar la utilidad de esta especie como posible modelo experimental.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizó corteza de Piquillín proveniente de Carmen de Patagones (Buenos Aires) molida en molino de martillo hasta alcanzar partículas de 1,5 mm para ser administrada por vía oral (intraesofágica, mediante pipeta Pasteur, suspendida en agua potable). Se utilizaron 12 pollos parrilleros de 40 días de edad de 2 kg de peso aproximado que fueron divididos en 4 grupos de 3 animales cada uno. Cada animal fue rotulado en las patas con marcador indeleble. Todos los grupos recibieron alimento terminador ad libitum, excepto el grupo 3, el cual tuvo una dieta restringida. Los grupos quedaron conformados de la siguiente manera: Grupo control: solo alimento; Grupo 1: alimento + 0,5 grs de corteza, Grupo 2: alimento + 0,25 grs. de corteza; Grupo 3: alimento restringido (100grs de alimento/kg de pollo/día) + corteza entera para consumo voluntario. Todos los animales fueron inspeccionados diariamente. Al finalizar el ensayo todos los animales fueron sacrificados, realizándose la correspondiente necropsia. Se tomaron muestras para histopatología de: hígado, encéfalo, médula torácica y lumbosacra de todos los animales.

RESULTADOS

Examen clínico: A los 10 días de haber comenzado el tratamiento,

un animal del grupo 2 comenzó progresivamente con signos de ataxia leve, que fue progresando durante el tratamiento aunque sin afectar otros miembros. Hallazgos macroscópicos: Grupo 1: en un animal se observó edema de meninges en la región lumbosacra; Grupo 2: en el animal afectado se observó edema de meninges en la región lumbosacra con desplazamiento de la médula hacia lateral. Hallazgos microscópicos: en todos los animales del grupo 1, en uno del grupo 2, y en uno del grupo 3 se encontró vacuolización leve de la sustancia blanca del cerebelo, y con degeneración axonal leve. Cambios similares, aunque más leves, se encontraron en la médula torácica y lumbosacra. Estas lesiones no se encontraron en el grupo control.

DISCUSIÓN

El Mal del Piquillín es una enfermedad neurológica que afecta a bovinos y porcinos. Produce una leucomielopatía progresiva, que culmina en la muerte de los animales afectados. Los resultados obtenidos indican que las aves desarrollan lesiones compatibles tras la administración de corteza de *Condalia microphylla*. A su vez, solo 1 animal manifestó el cuadro clínico compatible observado en mamíferos. Esto podría relacionarse con que la dosis administrada o el período de administración no alcanzaran el umbral tóxico. En este sentido, la aparición de signos en el animal afectado estaría relacionada con su mayor susceptibilidad individual.

Si bien el mantenimiento de los animales en experimentación y la administración de la corteza resultaron muy sencillos, los resultados obtenidos no reprodujeron el cuadro tal como se observara en mamíferos. Las lesiones observadas resultaron más evidentes en el cerebelo que en la médula espinal. Esto podría deberse a un efecto diferencial del tóxico en las aves, como a un mayor daño en la médula al momento de su extracción, que dificulta la observación de cambios sutiles.

El presente trabajo resulta un primer acercamiento al desarrollo de un modelo experimental alternativo del Mal del Piquillín. Si bien se observaron en los animales expuestos a la corteza de la planta cambios compatibles con la enfermedad, estos no se ajustan a lo previamente descripto para la misma. Futuros estudios serán necesarios para determinar el origen de estas diferencias, como así también para evaluar la utilidad del modelo aviar en el estudio de esta intoxicación.

BIBLIOGRAFÍA

- Bedotti D, Castiñeira J, Pérez L, Fort M, Molina R, Esaín F, Sager R, Troiani H: Mal del Piquillín en vacunos adultos de la provincia de La Pampa. Vet Arg 23:251–257, 2006.
- Delgado F, Salvat A, Capellino F, Antonacci L, Godoy H, Blanco Viera FJ: Intoxicación por *Condalia microphylla* (piquillín): descripción clínica y patológica y su reproducción experimental. Med Vet (Buenos Aires) 88:255–260, 2007.

PT14- LA ADICIÓN DE TANINOS DE CASTAÑO Y QUEBRACHO EN LA DIETA ESTABILIZA LA MICROBIOTA RUMINAL EN BOVINOS.

J.M. Díaz Carrasco ^{1,2}; C. Cabral ³, L.M. Redondo ^{1,2}, N. Pin Viso ^{2,4}, M.D. Farber ^{2,4}, M.E. Fernández Miyakawa ^{1,2}.

¹ Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina, ² Instituto de Patobiología, Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Buenos Aires, Argentina.

³ SilvaTeam S.A, Cuneo, Italia. ⁴ Instituto de Biotecnología, Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Buenos Aires, Argentina. e-mail: diazcarrasco.j@inta.gob.ar

Introducción:

Los taninos son compuestos fenólicos derivados de plantas, que comúnmente forman parte de la dieta de los rumiantes. Muchos trabajos sugieren que la inclusión de extractos vegetales ricos en taninos en la alimentación mejora la performance productiva y la salud de los bovinos. Aunque estos efectos han sido mayormente atribuidos al bypass proteico de la digestión ruminal, dicho mecanismo no puede explicar completamente el efecto promotor de crecimiento que ejercen los taninos. El rumen alberga una microbiota extremadamente compleja, que permite convertir la masa vegetal no digerible en energía. Se ha postulado que los taninos pueden mejorar la microbiota del rumen en forma similar a los promotores de crecimiento antibióticos, mediante la reducción de grupos específicos de microorganismos.

El objetivo de este trabajo fue estudiar el impacto de extractos vegetales ricos en taninos derivados de castaño y quebracho sobre la composición y la dinámica de la microbiota ruminal de bovinos sometidos a una dieta rica en almidones.

Materiales y métodos:

Se realizó la secuenciación de alto rendimiento del gen de ARN ribosomal 16S para evaluar la variación temporal en la composición de poblaciones bacterianas del rumen luego de la adición de taninos derivados de castaño y quebracho a la dieta en una dosis de 2g de extracto por kg de alimento. Se muestrearon 6 animales fistulados de 5 años de edad raza Holando-Argentino, tomando 5 muestras seriadas de cada animal: una antes del tratamiento (T1) y otras cuatro a los 3, 5, 9 y 12 días de tratamiento con taninos (T2-T4). Se extrajo el ADN total de cada muestra, se construyeron librerías las regiones variables V3 y V4 del gen 16S mediante amplificación por PCR, y se realizó la secuenciación masiva de las mismas mediante la plataforma Illumina MiSeq. El análisis bioinformático de las secuencias de efecto usó el software QIIME mientras que las comparaciones estadísticas se realizaron con el programa STAMP.

Resultados:

Se obtuvieron un total de 9.871.395 de secuencias del gen 16S, con un promedio de 330.000 lecturas por muestra. Luego de la clasificación de los grupos bacterianos presentes en el rumen, se encontró que el número total de phyla bacterianos se incrementó de 34 a 40 luego de la adición de taninos a la dieta. Asimismo, el número total de unidades taxonómicas operacionales (OTUs, equivalentes a especies bacterianas) también aumentó significativamente de 12.323 (T1) a 13.365 (T5) ($p<0.05$) luego de la adición de taninos a la dieta. La diversidad microbiana en el rumen, estimada mediante el índice de Shannon, también se vio aumentada al final del tratamiento con taninos ($p<0.10$), concomitantemente con una reducción de 4 veces en la variación interindividual de dicho estimador de diversidad.

A nivel de composición de la microbiota, se observó un reacomodamiento de las abundancias relativas de diferentes grupos bacterianos. Entre estos cambios, se observó un aumento del phylum *Firmicutes* (principalmente bacterias de la familia *Ruminococcaceae*) en detrimento del phylum *Bacteroidetes* (reducción del género *Prevotella*). La relación entre *Firmicutes* y *Bacteroidetes* se vio aumentada (de 0.78 a 1.14, $p<0.10$) y dicho aumento mostró una fuerte correlación con el tiempo de tratamiento con taninos ($r=0.96$). También se observó un aumento de las bacterias celulolíticas y amilolíticas de distintos phyla, y una disminución en la proporción de bacterias metanogénicas del phylum *Euryarchaeota*.

Discusión:

La diversidad de la microbiota ruminal es una característica fundamental de los rumiantes, dado que confiere a los animales una gran capacidad de adaptación frente a un amplio rango de condiciones alimentarias. Los resultados muestran que la adición de taninos de castaño y quebracho en la dieta de bovinos permitió a la microbiota ruminal adquirir una mayor diversidad y complejidad, y la misma sufrió una estabilización progresiva entre los animales a lo largo del tratamiento con taninos. A su vez, luego del tratamiento con taninos se observó un aumento en la relación *Firmicutes/Bacteroidetes*, una mayor proporción de bacterias celulolíticas y amilolíticas, y una reducción en el número de arqueas metanogénicas. Todos estos cambios han sido relacionados con una mayor capacidad de aprovechamiento de la energía y producción de masa corporal en distintos animales, lo que podría explicar el efecto promotor de crecimiento que ejercen estos taninos en dosis bajas o moderadas.

Referencias:

1. Patra, AK y Saxena, J (2009). Dietary phytochemicals as rumen modifiers: a review of the effects on microbial populations. *Antonie van Leeuwenhoek*, 96(4), 363–75.
2. Frutos, P y col. (2004). Tannins and ruminant nutrition. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 2(2), 191.
3. Jami, E y col. (2014). Potential role of the bovine rumen microbiome in modulating milk composition and feed efficiency. *PLoS One*, 9(1), e85423.
4. McCann, JC y col. (2014). High-throughput Methods Redefine the Rumen Microbiome and Its Relationship with Nutrition and Metabolism. *Bioinformatics and Biology Insights*, 109–125.
5. Caporaso, JG y col. (2010). QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nature Methods*, 7(5), 335–6.

PT15- LA ANEMIA COMO CONSECUENCIA TEMPRANA DE LA HIPOCUPROSIS EN TERNEROS

Rosa DE¹, Lizarraga RM¹, Galarza EM¹, Fazzio LE¹, Mattioli GA¹

¹Laboratorio de Nutrición Mineral y Fisiología Reproductiva, Fac. Cs. Veterinarias, Univ. Nac. La Plata. mattioli.fcv.unlp@gmail.com

INTRODUCCIÓN

La anemia ha sido identificada como consecuencia de una carencia severa y prolongada de Cu (Suttle et al, 1987). Recientemente se informó de una disminución del porcentaje de hematocrito como consecuencia temprana de la carencia de Cu en terneros (Fazzio et al, 2010). En un intento por evaluar este tema se realizó un ensayo de suplementación con terneros en la Cuenca del Salado, área con antecedentes de carencias graves de Cu y moderadas de Zn.

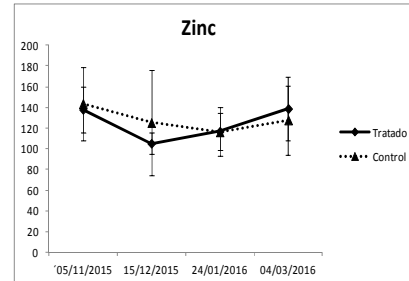
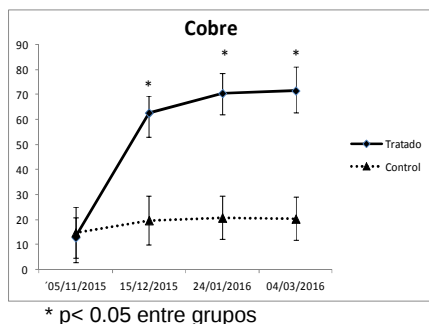
MATERIALES Y MÉTODOS

En un lote de terneros Aberdeen Angus al pié de la madre, de entre 3 y 7 meses, se generaron dos grupos de 10 animales, homogéneos en peso, sexo y edad y se realizó un ensayo de suplementación con Cu y Zn inyectable (Suplenut®). El Grupo tratado (GT) recibió una dosis parenteral de Cu (0,3 mg/Kg) y de Zn (1 mg/Kg) cada 41 días. El Grupo Control (GC) permaneció sin tratamiento. Se tomaron muestras de sangre entera para la realización de un hemograma completo y con el plasma se midieron las concentraciones de Cu y Zn. El diseño estadístico fue completamente aleatorio, y se analizó con un modelo mixto con medidas repetidas en el tiempo con el programa estadístico SAS (9.1). La separación de medias se realizó mediante el procedimiento SLICE. Se consideraron diferencias significativas aquellas $< 0,05$ y una tendencia $< 0,1$ para efectos principales.

RESULTADOS

En la figura 1 se presentan los valores medios ($\pm$ SD) de Cu y Zn. Los grupos se diferenciaron por los niveles de Cu ($p < 0,01$) pero no por aquellos de Zn ($p: 0,54$). El tratamiento generó cambios en el hemograma. Si bien el recuento de eritrocitos no varió entre grupos ($p: 0,93$), la suplementación elevó el porcentaje de hematocrito (Hto), con aumento del VCM y la HCM, sin afectar la CHCM y con tendencia a aumentar la concentración de hemoglobina ($p: 0,069$), siempre a favor del GT. Esta última y el Hto ya evidenciaron diferencias significativas al primer muestreo, 41 días post-tratamiento, demostrando el carácter precoz del cambio.

Figura 1: Variaciones de los valores promedio ($\pm$ DS) de los niveles de Cu y Zn durante el ensayo.



DISCUSIÓN

La asociación histórica entre la deficiencia de Cu y la anemia ha sido la dependencia del metabolismo del Fe de cuproenzimas encargadas de favorecer la absorción intestinal y la movilización hepática de Fe (Meyer et al, 2001). Esta patogenia parece muy lenta para justificar cambios hematológicos tempranos. Sin embargo, la deficiencia de Cu también reduce la actividad antioxidante eritrocitaria de la Cu-Zn SOD (Sharma et al, 2005). La disminución de esta enzima aumenta el daño oxidativo del eritrocito y reduce su vida media. El riesgo es aún más grave cuando coexisten las carencias de Cu y Zn, las cuales han causado anemias microcíticas pero macrocrómicas en razas cebuinas (Damir et al, 1988). De este modo, posiblemente sea la disminución en la capacidad antioxidante eritrocitaria la responsable de los cambios hematológicos citados.

CONCLUSIONES

La carencia de Cu en terneros genera de manera precoz una disminución del Hto y de la concentración de hemoglobina, posiblemente asociada a fallas en la capacidad antioxidante del eritrocito.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) Damir HA, Barri ME, el Hassan SM, Tageldin MH, Wahbi AA, Idris OF. Clinical zinc and copper deficiencies in cattle of western Sudan. Trop Anim Health Prod. 1988; 20(1):52-6.
- 2) Fazzio LE, Mattioli GA, Picco SJ, Rosa DE, Minatel L, Gimeno EJ. Diagnostic value of copper parameters to predict growth of suckling calves grazing native range in Argentina. Pesquisa Veterinária Brasileira. 2010; 30 (10): 827-832.
- 3) Meyer LA, Durley AP, Prohaska JR, Harris ZL. Copper transport and metabolism are normal in aceruloplasminemic mice. J Biol Chem. 2001; 276(39): 36857-61.
- 4) Sharma MC, Joshi C, Pathak NN, Kaur H. Copper status and enzyme, hormone, vitamin and immune function in heifers. Res Vet Sci. 2005; 79(2):113-23.
- 5) Suttle NF, Jones DG, Woolliams C, Woolliams JA. Heinz body anaemia in lambs with deficiencies of copper or selenium. Br J Nutr. 1987; 58(3):539-48.

PT16- PROCESAMIENTO DE MUESTRA DE SANGRE DE LLAMA: PURIFICACIÓN DE GLÓBULOS BLANCOS

MM Odeon^{1,2}, S Romero³, SA Romera^{1,2,4,5}

1 CONICET; 2 CICVyA-INTA Castelar; 3 INTA IPAF NOA (Instituto de Investigación y Desarrollo Tecnológico para la Agricultura Familiar Región NOA) Hornillos, Jujuy, Argentina; 4 Universidad del Salvador; 5 Universidad de Morón.

Correo electrónico: romera.alejandra@inta.gob.ar

INTRODUCCIÓN

El aumento de la producción de fibras y demás productos de los camélidos sudamericanos debe ser parte de una estrategia global de inversión sostenida en investigación y desarrollo apropiados. Entre los productos que se comercializan se encuentra la carne, cueros, lana, fibras y artesanías. Todos a través de vías informales de comercialización (mercados de trueques y/o canjes por alimentos no perecederos) de manera individual y a bajos precios (Quispe, 2009). A partir de la década del '60 ha habido un crecimiento del rodeo de llamas estimulado por factores tales como el involucramiento de las autoridades de las provincias del NOA y de organismos federales e internacionales, que ya consideran la producción de camélidos como un factor de desarrollo regional, pero también por un incremento de las posibilidades de comercialización de fibra y carne que comienza a insinuarse. La cantidad total de ganado camélido en la Argentina es mayor de 160.000 animales, distribuidos principalmente en el altiplano de Jujuy (100.000), y el resto en Catamarca y Salta (Aba, 2005).

Estas especies poseen ventajas comparativas, dado que se desarrollan en áreas agro- ecológicas donde no se adaptan adecuadamente otras especies de interés productivo; así mismo su crianza constituye una actividad socioeconómica sumamente importante para el poblador alto andino (García Fernandez, 1992). En la provincia de Jujuy, la mayoría del ganado camélido se encuentra en manos de comunidades campesinas de pequeños productores familiares cuya actividad principal es la ganadería de altura. Las condiciones de manejo son precarias, de manejo tradicional, carente de tecnología o sistemas racionales de explotación y en la mayoría de los casos la mano de obra es familiar. Debido a las características de dicho manejo se suman a los factores limitantes de la producción las respuestas de estrés y las enfermedades.

Por las razones anteriormente mencionadas es importante que el productor adquiera pautas que posicionen a este producto no solo desde el valor nutricional sino desde el valor ético. En el área de bienestar animal se abordan estudios relacionados a evaluar el impacto de diferentes situaciones de manejo como la esquila, prácticas sanitarias, y la adecuación de las instalaciones a estas especies. Los efectos del manejo de los animales sobre el bienestar animal se pueden medir a través de indicadores fisiológicos y de comportamiento.

Con el objetivo de evaluar parámetros bioquímicos y celulares como indicadores de bienestar animal en distintos sistemas de producción de llamas, nos propusimos poner a punto un método eficiente de obtención de muestra para dicha evaluación, purificación de glóbulos blancos y su posterior criopreservación. Como producto de estos estudios se pretende generar recomendaciones de manejo bajo las condiciones particulares de los sistemas rurales locales y de las especies animales, ya que hasta el momento no existen muchos antecedentes al respecto.

MATERIALES Y MÉTODOS

La muestra de sangre de llamas fue tomada de la vena yugular externa con citrato 3.8% (1:10) como anticoagulante. Luego se procesaron con tres protocolos distintos para la futura evaluación de obtención de glóbulos blancos con cada uno de ellos, con el objetivo de maximizar el número de células obtenidas, evitando la contaminación de glóbulos rojos. Se

partió de 500 μ l de sangre en cada protocolo, se realizaron por duplicado. La diferencia entre protocolos consiste principalmente en el método de lisis de glóbulos rojos, ya que al tratarse de camélidos es una de las principales variables a ajustar. Difieren del resto de los mamíferos en que sus glóbulos rojos son elípticos y con mayor afinidad por el oxígeno. Para analizar la eficiencia de cada protocolo se realizó un conteo de células con azul de tripan en cámara de Neubauer. Para evaluar pureza de las muestras obtenidas se realizó un extendido de las células, se tiñeron con Giemsa y se observaron al microscopio óptico.

Protocolo general: 1-Centrífugar 1000 g 30 min, separar plasma. 2-LISIS 1. 3-Centrífugar 1200g 5 min. 4-LISIS2. 5- Centrífugar 1200g 5 min. 6-Lavar con RPMI. 7-Centrífugar 1200g 5 min. 8- Resuspender células en RPMI-10%SFB.

LISIS Protocolo 1: H₂O destilada 1:1, 4°C

LISIS Protocolo 2: 5,4 g sacarosa 300 mM en Tris-HCl (pH 7,5) + 0,5 mL Tritón X // 1:1, 5 min, 4°C

LISIS Protocolo 3: NH₄Cl 155 mM; Bicarbonato de potasio 10 mM; EDTA disódico 0.1 mM // 1:1, 15 min, 4°C

LISIS Protocolo 4: NH₄Cl 155 mM; Bicarbonato de potasio 10 mM; EDTA disódico 0.1 mM // 1:1, 15 min, 37°C

Luego de la purificación, se puso a punto un método de criopreservación de células.

RESULTADOS

Protocolo 1: Células obtenidas: 28 x10⁶ Cél./ml
Contaminación de eritrocitos: Muy Alta

Protocolo 2: Células obtenidas: 12 x10⁶ Cél./ml
Contaminación de eritrocitos: Baja

Protocolo 3: Células obtenidas: 92 x10⁶ Cél./ml
Contaminación de eritrocitos: Alta

Protocolo 4: Células obtenidas: 103 x10⁶ Cél./ml
Contaminación de eritrocitos: Baja

DISCUSIÓN

Luego de analizar el número de células obtenidas y la contaminación de glóbulos rojos presentes se concluye que el protocolo número 4 es el adecuado para la obtención de plasma y la purificación de glóbulos blancos de llama. Únicamente con el protocolo 4 se logró una muestra final con un buen rendimiento en la obtención de linfocitos y neutrófilos sin contaminación con glóbulos rojos. La lisis en los protocolos 1 y 3 fue muy baja, mientras que en el protocolo 2 sí se observó lisis de eritrocitos pero también de glóbulos blancos. La mejor combinación fue en el protocolo 4, donde se utilizó un buffer con mayor poder lisante que el 1 pero menor que el 2, a una temperatura que optimice su acción.

Se logró, siguiendo a la purificación, un método eficiente de criopreservación de células a -80°C.

BIBLIOGRAFÍA

-Aba, M. A.; Quiroga, M.A. y Lamas, H.E. 2005. Manejo sanitario de los Camélidos de la puna jujeña: situación actual y cambios técnicos a implementar. Seminario Int. de Camélidos Domésticos. Gob. de Jujuy-Consejo Federal de Inversiones.
-Quispe EC, Rodríguez TC, Iñiguez LR y Mueller JP, 2009. Producción de fibra de alpaca, llama, vicuña y guanaco en Sudamérica. Animal Genetic Resources Information.
-García Fernandez, J.J., Tecchi, R. y M. Rabey, 1992. La ganadería de camélidos en el altiplano de Jujuy. Ecosistemas Altoandinos de Argentina y Chile. Memorias.

PT17- DIAGNÓSTICO MACROSCÓPICO DE ABSCESO HEPÁTICO EN BOVINOS PARA CARNE TERMINADOS EN CONFINAMIENTO UTILIZANDO DISTINTOS PROMOTORES DE CRECIMIENTO

C Cabral¹, E. Redondo², F Delgado^{2,3}

¹Silvateam, Argentina, ²Inst. Patobiología, CICVyA, INTA, ³Cátedra de Patología Animal, USal. ccabral@silvateam.com

Introducción

La hepatitis supurativa focalizada, o absceso hepático, es un trastorno inflamatorio agudo, caracterizado por la presencia de un exudado purulento limitado por una capsula de tejido conectivo, que puede encontrarse como una estructura única (focal) o múltiple (multifocal). Estos pueden confinarse al hígado o generar émbolos que afectan otros órganos. Son causados por diversas bacterias que alcanzan el hígado por diferentes vías. Un factor predisponente en bovinos es el desarrollo de acidosis ruminal, la cual es frecuente en sistemas productivos intensivos debido al uso de concentrados energéticos. Estos reducen el pH ruminal y producen una inflamación que favorece la diseminación hematogénica de microorganismos ruminales, los cuales acceden rápidamente al hígado. Por esta razón, los bovinos criados bajo condiciones intensivas o de engorde a corral tienen mayor riesgo de padecer este trastorno. Los abscesos hepáticos reducen el consumo de los animales afectados, la conversión alimenticia, y provocan el decomiso del hígado, afectando así el margen de ganancia de las explotaciones de engorde a corral. En Argentina, un estudio previo indica una prevalencia del 4,4% en bovinos engordados bajo este sistema. Si bien este valor sería menor al reportado en otros países, disminuir el número de animales afectados impactaría positivamente en la producción bovina, considerando la utilización creciente de los sistemas de producción intensivos. Para mejorar el rendimiento de estos sistemas se utilizan en la dieta sustancias promotoras del crecimiento, generalmente antibióticos que a dosis bajas controlan la proliferación de la microbiota ruminal y mejoran la conversión alimenticia. A pesar de sus beneficios productivos, el uso de estos productos tiene efectos adversos como son la generación de resistencia a antibióticos en microorganismos y la persistencia de residuos en la carne. Por esto, otros aditivos han sido evaluados exitosamente como promotores de crecimiento. Debido a su efecto sobre la microbiota, los mismos pueden ser útiles en el control del desarrollo de abscesos hepáticos. El objetivo del presente trabajo es evaluar si existen diferencias en la frecuencia de diagnóstico de absceso hepático en bovinos criados en confinamiento, cuando se utilizan promotores de crecimiento diferentes.

Materiales y métodos

Se seleccionaron 90 terneras Aberdeen angus, de 8 meses de edad, las cuales fueron divididas en 2 grupos de 45 cada uno, y criadas en confinamiento hasta alcanzar su peso de faena. Se alimentaron con una dieta amilolítica (5% de fibra), administrando al grupo 1 un producto comercialmente disponible desarrollado en base a extractos vegetales polifenólicos (Silvafeed Bypro, Silvateam Argentina) a una dosis de 0,28% del total de MS, y al grupo 2 el antibiótico monensina a una dosis de 40 mg/kg de MS, contando ambos grupos de animales con agua *ad libitum*. Tras un período de 84 días, los animales fueron sacrificados en frigorífico tras alcanzar su peso de faena. Allí, se inspeccionó el hígado de los animales de ambos grupos, registrando la presencia de abscesos. Los resultados obtenidos para ambos grupos fueron analizados mediante el test exacto de Fischer, considerando significativas las diferencias ante un valor

de $p < 0,05$.

Resultados

No se encontraron abscesos hepáticos en animales del grupo 1. Dos animales del grupo 2 tuvieron abscesos. En uno se encontró un absceso de 3 cm de diámetro, mientras en el otro se encontraron 4 abscesos de hasta 2 mm. Las diferencias encontradas entre ambos grupos resultaron estadísticamente no significativas.

Discusión

La presencia de abscesos hepáticos reduce el margen de ganancia de los sistemas productivos de engorde bovino de tipo intensivo. Los resultados obtenidos en el presente trabajo para el grupo de animales tratado con monensina indican una prevalencia similar a la previamente reportada en Argentina. Tal hallazgo sería de esperar si se considera que este antibiótico es uno de los productos más utilizados como promotor de crecimiento en estos sistemas. Por otro lado, los animales del grupo 1, tratados con derivados de extractos polifenólicos, no mostraron abscesos hepáticos. Si bien las diferencias observadas no fueron estadísticamente significativas, la ausencia de lesiones indicaría una tendencia que deberá confirmarse mediante estudios adicionales.

El uso de antibióticos como promotores de crecimiento genera resistencia en numerosos microorganismos, lo cual es un efecto indeseado tanto para la salud animal como para la salud pública. A su vez, muchos requieren de un período de restricción pre faena para evitar la presencia de residuos en la carne. Por ello, el uso de este tipo de productos como promotores de crecimiento está siendo desalentado por la legislación de un número creciente de países tanto en bovinos como en otras especies. En este sentido, los mismos deberán ser reemplazados por otros productos que tengan efecto similar. Los resultados obtenidos en el presente trabajo sugieren que el aditivo utilizado como promotor de crecimiento, obtenido a partir de extractos vegetales polifenólicos (blend de diferentes fuentes de taninos), además de mejorar la conversión alimenticia y mejorar la ganancia diaria de peso sería de utilidad para el control de abscesos hepáticos. Si bien deben realizarse estudios adicionales para confirmar esta hipótesis, esto representaría una ventaja adicional por sobre los antibióticos actualmente utilizados.

Referencias

- Cabral C, López Da Silva A, Couderc JJ, Colombatto D, Barajas R. Influence of tannins extract and monensin supplementation of performance of feedlot heifers in Argentina. ASAS-ADSA-CSAS-WSASAS Joint Annual Meeting, Salt Lake City, 2016.
- Cullen JM. Chapter 8: Liver, biliary system and exocrine pancreas. En: Mc Gavin MD, Zachary JF. Pathologic basis of veterinary disease. Mosby-Elsevier, St. Louis, Missouri, 4 ed., 2007.
- Giuliodori MJ, Lasta G, Costa EF, Corva SG, Baldo A. Prevalencia de abscesos hepáticos en animales de feedlot en Argentina. ANALECTA VETERINARIA 2000; 20, 1: 29-31

	N	Tratamiento (dosis)	Número de animales con abscesos* (promedio en %)
Grupo 1	40	XXX ()	0 (0)
Grupo 2	44	Monensina ()	2 (4,5)
*Diferencia no significativa ($p=4.95$)			

Tabla 1: Animales con abscesos hepáticos en los grupos experimentales

PT18- VALORES DE CALCIO, FOSFORO, MAGNESIO Y PROTEINAS EN SUERO DE LLAMAS (*LAMA GLAMA*) DE LA PROVINCIA DE JUJUY

R.E. Marin¹, O.D. Medina¹, P.A. Corregidor¹

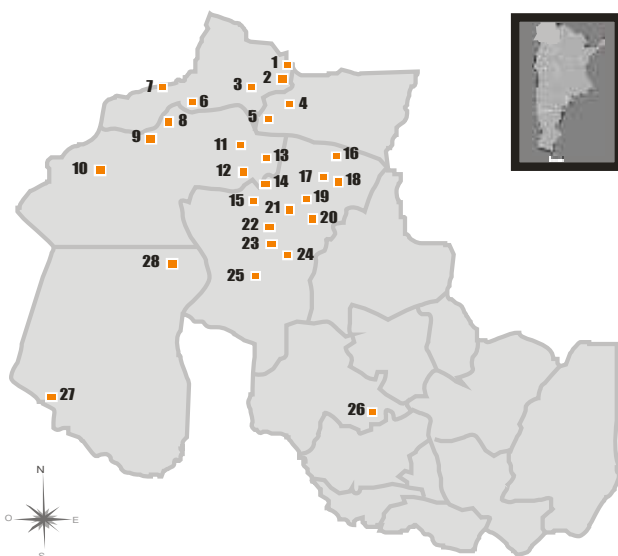
¹ Facultad de Ciencias Agrarias, Alberdi 47, 4600, Jujuy. Universidad Nacional de Jujuy, raulemarin@hotmail.com

Introducción

La provincia de Jujuy posee la mayor población nacional de llamas (*Lama glama*), donde adquiere una vital importancia socioeconómica en el altiplano provincial. La necesidad de lograr la sistematización productiva de la especie plantea el objetivo de establecer las variables sanitarias, identificando tanto las enfermedades de potencial impacto productivo, como parámetros de valoración clínica para la aplicación en la salud productiva de la especie. En este trabajo se presentan los valores de proteínas totales y sus fracciones, y los perfiles minerales de calcio, magnesio y fósforo obtenidos en llamas nativas de Jujuy, las cuales fueron sometidas simultáneamente a múltiples estudios serológicos para una amplia variedad de agentes etiológicos parasitarios, bacterianos, virales y medición de endoparásitos (Marin, R.E, 2011)

Materiales y métodos

Durante 2007 y 2008 se muestrearon 182 llamas sin discriminación de sexo, mayores de 3 años de edad, provenientes de 27 localidades diferentes de 6 departamentos provinciales y pertenecientes a 65 productores. Todas las tropas muestreadas son nativas y viven a más de 3000 metros de altura sobre el nivel del mar (msnm), salvo solo una que se encuentran a 1800 msnm. Se muestrearon entre 5 y 10 animales por tropa por productor. Ningún animal presentaba signología clínica de ningún tipo y fueron elegidos al azar. Todas las tropas muestreadas realizan un manejo típico de la región, en forma extensiva y con pastoreo natural sin racionamiento. Se obtuvo sangre mediante venopunción yugular y posteriormente colocada en tubos con y sin anticoagulante, para medición de parámetros hemáticos y para obtención de suero. Se realizó la medición de proteínas fraccionadas por método U.V automatizado, calcemia por método Cresolft-Complexona automatizado, fosfatemia por el Método Cinético U.V automatizado, y magnesio en sangre por el Método colorimétrico automatizado



Resultados

Los resultados obtenidos se expresan en valores promedio y desvío estándar y se muestran en la tabla 1

TABLA 1: Valores de proteínas, Calcio, fósforo y magnesio			
	$\bar{X}$	Desv. Estnd.	rango
Proteínas totales (g%)	6,32	0,62	4,6-7,93
Albuminas (g %)	3,9	0,5	2,39-6,79
Globulinas (g %)	2,45	0,69	1,05-5,52
Relacion A-G	1,75	0,7	0,8-4-55
Calcio (mg/dl)	8,76	0,88	6,7-10,73
Fósforo (mg/dl)	6,6	1,35	2,57-10,23
Magnesio (mg/dl)	2,4	0,56	1,08-4,1

Discusión

La información local y regional sobre parámetros fisiológicos con interpretación clínica de sus variables en llamas son muy escasos (De Vega, F y Col, 2011, De Vega y Abalos, 2011), donde aporta datos sobre 25 llamas de Abra Pampa, Jujuy, y concluye que el 32 % de esos animales presentan hipercalcemia, hiperfosfatemia e hipermagnesemia, considerando al resto de los sueros examinados como normales fisiológico de los minerales estudiados, mientras que aporta datos sobre proteinograma en llamas. Los resultados obtenidos en el presente trabajo se establecen dentro de los valores previamente publicados en Abra Pampa, Jujuy (De Vega y col, 2011 y De Vega y Abalos, 2011) y en literatura de consulta internacional (Manual Merk de Veterinaria, 2007) y fueron obtenidos sobre un muestreo mayor y con una amplia cobertura geográfica y aportan datos de referencia, pero debido al amplio rango en los valores, resulta dificultoso establecer dichos valores como fisiológicos. El dato adicional de que éstos mismos animales fueron evaluados serológicamente a diversos agentes infecciosos, tanto virales, parasitarios y bacterianos, y análisis cuali-cuantitativos de endoparásitos, aproxima los datos aquí presentados desde un modo más objetivo como valores de referencia en la región, dado que los animales no presentaban además signología clínica alguna. Se considera la necesidad de realizar estudios posteriores que relacionen éstos valores con respecto a niveles nutricionales, época del año y condición corporal.

Bibliografía 1-De Vega, F.; Abalos E. B.; Marín J. M., 2011. Biofísicoquímica de los perfiles metabólicos de fósforo, calcio y magnesio en llamas autóctonas de la localidad de Abra Pampa, Jujuy. Avances en producción vegetal y animal del Noa. 2009-2011, Sitio Argentino de Producción Animal. <http://www.produccion-animal.com.ar/portal.htm>

2-De Vega, F.; Abalos E. Biofísicoquímica del proteinograma en llamas de la puna, Abra Pampa, Jujuy. Avances en la producción vegetal y animal del Noa. 2009-2011, Sitio Argentino de Producción Animal. <http://www.produccion-animal.com.ar/portal.htm>

3-Manual Merk de Veterinaria, 2007. 6ta Edición. 6ta Edición en español. Edit. Océano.

4-Marin, R.E. Prevalencia sanitaria en llamas de la provincia de Jujuy. Revista **VETERINARIA ARGENTINA**. Noviembre 2009. Volumen XXVI. N°259. <http://www.veterinariargentina.com/revista/2009/11/prevalencia-sanitaria-en-llamas-lama-glama-de-la-provincia-de-jujuy-argentina/>

PT19- VALORES HEMATOLÓGICOS Y BIOQUÍMICOS DEL PUMA ANDINO (*Puma concolor*) EN LA ESTACIÓN DE FAUNA AUTÓCTONA DE LAS COSTAS DE SAN LORENZO, SALTA, ARGENTINA.

A Mazzuca¹ L, Borrelli², J Aquino³.

¹ Responsable del Servicio de Análisis Bioquímicos y Adjunta de la Cátedra de Análisis Clínicos. ² Auxiliar Docente Cátedra de Producción Equina, ³ Técnico Químico del Servicio de Análisis Bioquímicos. Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias de la Universidad Católica de Salta. laboratorio.veterinaria@ucasal.edu.ar

Introducción

El puma andino (*Puma concolor*) es un carnívoro de gran importancia para el ecosistema. Aumentar el conocimiento sobre esta especie permitiría mejorar su estado de conservación, superar los problemas que afectan su sobrevivencia y así lograr una efectiva protección. Este trabajo tiene como objetivo describir parámetros hematológicos, las concentraciones plasmáticas de diferentes variables bioquímicas de importancia diagnóstica, y a su vez aportar a la creación de un banco de datos que contribuya al conocimiento de esta especie en la Estación de Fauna Autóctona en la Reserva Las Costas de San Lorenzo, Salta.

El objetivo del trabajo fue determinar valores hematológicos (Hematocrito, Hemoglobina (g/dl), Eritrocitos ($\times 10^6/\mu\text{l}$), Leucocitos ($\times 10^3/\mu\text{l}$) y fórmula leucocitaria) y niveles séricos de enzimas: ASAT, ALAT, FAL, Proteínas totales y albúmina, glucosa, urea, creatinina y los minerales calcio iónico, sodio y potasio

Materiales y métodos:

Se extrajeron muestras de sangre de cuatro ejemplares hembras adultas de *Puma concolor* mantenidas en cautiverio. Se realizó una contención química para inmovilizar a los individuos y poder tomar una muestra sanguínea de la vena cefálica para luego realizar su análisis. En estas muestras se determinaron niveles de calcio iónico (Ca^{2+}), potasio (K^+) y sodio (Na^+). Para su determinación se utilizó un espectrofotómetro BIOSCIENCE, UV-visible, analizador automático de electrolitos DIESTRO 103 y reactivos Wiener y Diestro. Para los análisis hematológicos se utilizó cámara de Naubauer, soluciones de Turk (Ac Acético 2% v/v), solución salina al 0,85%, Giemsa y reactivo Hemocian de Brizuela Lab, (Argentina). Para los índices hematimétricos se utilizaron las fórmulas citadas por L Ramirez y col. (1998)

Resultados

Se obtuvieron los siguientes resultados de los hemogramas: Concentración de Eritrocitos $6,93 \pm 0,43 \times 10^6/\mu\text{l}$, HCT (hematocrito) $36 \pm 2,71\%$, Concentración de Hemoglobina $11,30 \pm 1,16 \text{ g/dl}$ y los índices hematimétricos: VCM $51,95 \pm 1,03 \text{ fl}$, HCM $16,29 \pm 0,84 \text{ pg}$ y CHCM $31,37 \pm 1,80 \text{ g/dl}$. Los resultados de los leucogramas fueron: Concentración de Leucocitos $11,49 \pm 5,14 \times 10^3/\mu\text{l}$ y los valores porcentuales: neutrófilos: $66,75 \pm 4,65\%$, eosinófilos: $3,5 \pm 1,0\%$, linfocitos $24,5 \pm 5,2 \%$ y monocitos $4,25 \pm 0,96 \%$.

La concentración plasmática promedio de proteínas totales fue de $7,0 \pm 0,5 \text{ g/dl}$, la de albúmina de $3,7 \pm \text{g/dl}$ y la RAG (Relación Albumina Globulina) fue de $1,2 \pm 0,6$. Las concentraciones plasmáticas de urea y creatinina fueron de $165 \pm 90 \text{ mg/dl}$ y de $22 \pm 16 \text{ mg/l}$ respectivamente. La glucemia fue de glucosa $113 \pm 39 \text{ mg/dl}$. La actividad plasmática de ASAT $21 \pm 6,2 \text{ U/l}$, de ALAT $18 \pm 2,5 \text{ U/l}$, y de Fosfatasa Alcalina fue de $59 \pm 25,7 \text{ U/l}$.

Las concentraciones sanguíneas para Na fue de $145,9 \pm 9,1 \text{ mmol/L}$, para Potasio, de $3,8 \pm 0,2 \text{ mmol/L}$, para el Calcio iónico fue de $4,23 \pm 0,3 \text{ mg/dl}$.

Discusión

Los valores encontrados en las pumas fueron similares a los de su misma especie en Iquitos, Perú (Tamayo, 2011), excepto el VCM y HCM, que alcanzan valores más altos.

La enfermedad renal crónica es un hallazgo común en los felinos exóticos de edad avanzada mantenidos en cautiverio, lo cual se manifiesta en los valores de urea y creatinina superiores a los encontrados en otros felinos salvajes *Felis silvestris* (Ignasi y col., 2000) y *Panthera onca* (Mussarty col., 2009). Las concentraciones y actividades plasmáticas de las enzimas ASAT, ALAT, FAL, junto con Proteínas totales, albúmina y glucosa obtenidas en este estudio, en su mayoría, son similares a los descritos anteriormente en felinos salvajes mantenidos en cautiverio.

Se obtuvo valores de calcio iónico, el cual es una fracción del calcio total. En futuros trabajos se prevé determinarla, al correlacionarla con el valor de calcio total.

Los valores obtenidos en este estudio sirven para ampliar el conocimiento sobre los parámetros hematológicos y bioquímicos del puma andino en cautiverio.

Bibliografía

Tamayo E, Baselly L y Carlos N. Hematología del puma andino (*puma concolor*) en un zoológico de la ciudad de Iquitos, Perú. Facultad de Medicina Veterinaria, Escuela Profesional de Ciencias Agropecuarias, Universidad Alas Peruanas, Lima-Perú; Zoológico Quistococha, Iquitos-Perú. 2011

Ignasi M, Martinez y col. Hematologic and serum chemistry values of the captive european wildcat, Servicio de Ecopatología de Fauna Salvaje, Facultad de Veterinaria, Universidad Autónoma de Barcelona, 2000

Mussart, N, - Coppo, J y col. Aproximación a algunas variables hematológicas de "yagaretés" (*Panthera onca*) cautivos en el nordeste argentino. Cátedra de Fisiología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNNE, 2009

Widmer C, Hagiwara K y col. Hematology and serum chemistry of free ranging jaguars (*Panthera onca*), Journal of Wildlife Diseases, Lawrence, v. 48, n. 4, pp. 1113-1118, oct, 2011

Ramirez L, TorresD, León P, Azuaje K, Sánchez F Observaciones hematológicas en varios rumiantes tropicales. *Revista Científica, FVC LUZ*, 8(2), 105-112.

PT20- OBSERVACIÓN DE *LEISHMANIA SPP.* EN TUMOR VENÉREO TRANSMISIBLE EN UNA HEMBRA CANINA EN LA CIUDAD DE MERCEDES, CORRIENTES.

Autores: M.V. Pertile Carla Natalia U.N.N.E.¹; M.V. Bazzalo Valeria. U.B.A.¹

¹ Actividad privada: Laboratorio La Mission Diagnóstico Veterinario, Mercedes, Corrientes.

Carlapertile10@hotmail.com ; valeriabazzalo@hotmail.com

Introducción:

El primer caso de leishmaniosis visceral canina (LVC) en la ciudad de Mercedes, Corrientes fue diagnosticado clínicamente a fines del año 2010, en un consultorio de actividad privada y por citología de Punción aspiración con aguja fina (PAAF) de médula ósea (método parasitológico) y serológico (tira reactiva RK39) en inicios del año 2011. Desde el inicio de actividades del laboratorio (año 2013) hasta el momento (inicios del año 2016) los casos positivos a leishmaniosis representan un 32.3% del total de muestras recibidas para citología de médula ósea, nódulos linfáticos y de lesiones cutáneas. En este informe se describe el caso de un canino hembra que presentó un tumor venéreo transmisible vaginal, la citología de tejido tumoral reveló amastigotes de *Leishmania spp* dentro de macrófagos infiltrantes. Se ha sugerido en reportes [1; 2; 3] que la presencia de amastigotes de *Leishmanias spp* en células neoplásicas de un tumor venéreo transmisible puede representar un modo alternativo de transmisión de leishmaniosis canina en las zonas donde estas enfermedades coexisten.

Materiales y métodos:

El paciente en estudio corresponde a una hembra canina de 4 años de edad, raza indefinida, castrada. Fue asistida en la consulta y el médico veterinario que la atendió informa que durante el examen físico observó una masa sangrante, de 5 cm de diámetro en el vestíbulo vaginal. Llevaba varios meses de evolución, y no presentaba otros signos clínicos sistémicos significativos. Presumiendo que el paciente sufría un Tumor Venéreo Transmisible (TVT) y, con el objeto de confirmar el diagnóstico, se realizó una PAAF y una biopsia de la tumoración. El laboratorio procesa las muestras (extendido fino de PAAF de masa vulvar), utilizando la tinción Giemsa. Con la finalidad de recoger más datos, se extrajo sangre, suero y muestras de médula ósea y linfonódulo poplíteo por PAAF. En el laboratorio se realizó un test serológico con tira reactiva1. rK39, una prueba inmunoenzimática basada en un antígeno recombinante compuesto por una secuencia repetitiva de 39 aminoácidos de *Leishmania2. chagasi* (rK39), que tiene un formato de tira reactiva,3. requiere 20 ul de suero problema y ofrece resultados4. cualitativos (reaccionante o no reaccionante) en pocos minutos.

Resultados:

La observación microscópica reveló: células redondas6. con grandes núcleos y nucléolos evidentes con7. cromatina reticulada, binucleación y con escaso citoplasma vacuolado, numerosas figuras mitóticas, algunos neutrófilos y eritrocitos, características descriptas de las células, compatibles con células de Tumor Venéreo Transmisible. También se observan estructuras de 2 micras de diámetro con núcleo y kinetoplasto rodeados de citoplasma, aislados o agrupados, en el interior de macrófagos y dentro de lo

que podrían ser células neoplásicas. Dichas estructuras descriptas son compatibles con amastigotes de *Leishmania spp*. La histopatología de la muestra obtenida por biopsia de la tumoración, reveló la presencia de amastigotes de *Leishmanias spp* dentro de las células neoplásicas y dentro de los macrófagos. El test serológico con tira reactiva rk39, resultó reaccionante.

Conclusión:

El estudio citológico y serológico permitieron la confirmación del diagnóstico de Leishmaniosis, la cual, por ser una enfermedad de denuncia obligatoria se notificó en tiempo y forma a las autoridades competentes en nuestra ciudad.

Creemos que la infección de Leishmaniosis se podría transmitir mediante la implantación de células neoplásicas con amastigotes de *Leishmanias* infiltrantes, dado el estudio histopatológico que confirmó la presencia de *Leishmanias* dentro de células neoplásicas. Reportes en casos similares podrían indicar esta posibilidad en las zonas donde estas enfermedades coexisten. El presente caso pone de relieve los desafíos de diagnóstico, la naturaleza compleja, y las posibles consecuencias epidemiológicas de la superposición de las enfermedades infecciosas.

Agradecimientos:

Al Dr. Rodrigo Sánchez Guerrero de la Clínica Veterinaria Pay Ubre por sus aportes en el caso presentado en este artículo.

A la Dra. Elvira Falzoni, por la realización del estudio histopatológico. A la Dra. María Graciela Draghi y Dr. Octavio Estévez, con el aporte de sus conocimientos en esta área.

Bibliografía

1. Case Reports in Veterinary Medicine Volume 2014 . *Leishmania sp.* Amastigotes Identification in Canine Transmissible Venereal Tumor (2014). <http://dx.doi.org/10.1155/2014/603852>
2. Kegl K, *et al.* Vaginal Canine Transmissible Venereal Tumour Associated with Intra-tumoural *Leishmania spp.* Amastigotes in an Asymptomatic Female Dog, Journal of Comparative Pathology (2012), <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcpa.2012.11.241>
3. Karkamo V, Kaistinen A, Näreaho A, Dillard K, Vainio-Siukola K, Vidgrén G, Tuoresmäki N, Anttila M. (2014) The first report of autochthonous non-vector-borne transmission of canine leishmaniosis in the Nordic countries. Acta Vet Scand 2014.

PT 21- CANCER MAMARIO CANINO: EXPRESIÓN DEL ONCOGÉN HER2-NEU EN LOS DISTINTOS TIPOS HISTOPATOLÓGICOS

M.E Pereira¹; M.M Fidanz¹; J. Arteze¹; A. Vartabedian¹; E. Falzoni²

1. Área Patología Clínica, Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA., Chorroarín 280, Buenos Aires, Argentina

2. Cátedra de Enfermedades Infecciosas. mpereira@fvet.uba.ar

INTRODUCCION:

En el cáncer mamario un correcto diagnóstico histopatológico permite evaluar pronóstico y plantear estrategias terapéuticas. El pronóstico está correlacionado con el nivel de diferenciación. Los tumores malignos con mejor pronóstico son los adenocarcinomas complejos con estructura glandular altamente diferenciada. Los menos diferenciados tienen aspecto heterogéneo y desorganizado. Son los más malignos y se los conoce como anaplásicos, con gran tendencia a invadir vasos linfáticos y sanguíneos. En Medicina Humana la incorporación de marcadores tumorales ha permitido una mejor comprensión de la biología del cáncer mamario, con valor pronóstico y predictivo de respuesta a la terapia. En el cáncer de mama, una fracción de las pacientes sobreexpresan el oncogén Her2-Neu como parte del proceso de malignización. Esto está asociado a incrementos en las tasas de proliferación, comportamientos más agresivos, independencia hormonal y aumento de la resistencia a quimioterápicos. El objetivo del presente trabajo es investigar la expresión del oncogén Her2-Neu en cáncer mamario canino, su relación con el diagnóstico histopatológico y la sobrevida global asociada.

MATERIALES Y METODOS:

Se trabajó con 39 muestras de tejido neoplásico mamario canino de tipo maligno, provenientes del Servicio de Histopatología de la Facultad de Medicina Veterinaria-UBA. El tipo histológico se determinó por el método histológico convencional. Para inmunohistoquímica las secciones de tejido fueron procesadas siguiendo la técnica de Cell Marque, Rockling, CA, USA utilizando el anticuerpo monoclonal de ratón anti-Herb2-Neu (c-erbB-2) (clon CB-11). Las muestras fueron evaluadas a bajo aumento ($\times 40$) y luego, para el recuento de células con núcleos con tinción positiva, a gran aumento ($\times 400$). Se evaluaron 3000 células tumorales y se calculó el porcentaje de células con expresión positiva para Herb2-Neu. Los resultados se interpretaron según tabla N°1

Tabla N°1

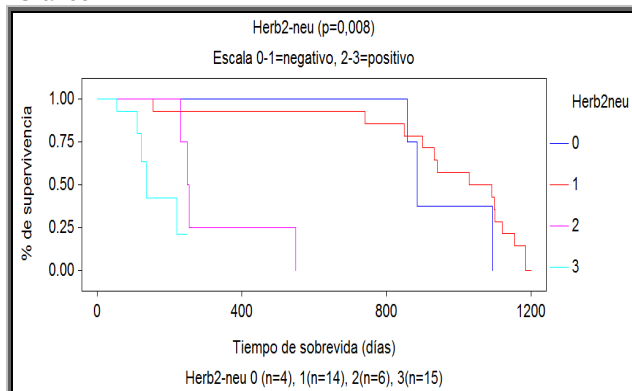
Escala	Interpretación	Patrón de Tinción para Herb2Neu
0	Negativo	No se observa tinción o la tinción en la membrana es en menos del 30% de las células tumorales.
1	Negativo	Tinción leve apenas perceptible en más del 30% de células. Se tiñe parte de la membrana celular.
2	Positivo	Tinción leve a moderada de la membrana completa en más del 30% de las células tumorales.
3	Positivo	Tinción intensa en la membrana completa en más del 30% de las células tumorales.

Para evaluar sobrevida global se empleó el método estadístico de análisis de supervivencia de Kaplan Meier. La comparación entre ellos se realizó mediante el Test de Logrank y Cox-Mantel, considerándose significativos los p menores o iguales a 0,05.

RESULTADOS Y CONCLUSIONES:

Se observaron diferencias significativas en cuanto a la expresión 0, 1, 2 y 3 de Herb2-Neu con una mediana de supervivencia de 870, 1092, 230 y 100 respectivamente. El grupo con escala 0-1, la cual se interpreta como negativa para la expresión de Herb2-Neu (Tabla N°1), mostró mejor pronóstico y mayor sobrevida global que el grupo de pacientes con escala 2-3 que se interpreta como positiva. (Gráfico N°1) De la evaluación del tipo histopatológico y su relación con la expresión de Herb2-Neu se observó en los adenocarcinomas simples (n=24, expresión positiva n=14 58,3% expresión negativos n=10 41,7%), en los adenocarcinomas compuestos (n=11, expresión positiva n=4 36,4% expresión negativos n=7 63,6%), en los carcinomas de células escamosas (n=2, expresión positiva n=2 100%) y tumores mixtos malignos (n=2, expresión positiva n=2 100%). El 53,9% de los pacientes con tumores mamarios malignos presentaron amplificado y/o sobreexpresado el proto-oncogén Herb2-Neu en un porcentaje mayor que el reportado por la bibliografía consultada. Estos tumores resultaron ser invasivos y con posibilidad de diseminarse a distancia con una rápida progresión de la enfermedad, pobre respuesta a la quimioterapia, corta sobrevida global y mala calidad de vida. La evaluación del Herb2-Neu permitirá adecuar la terapéutica a emplear en cada caso tendiendo a incrementar la sobrevida global y a mejorar la calidad de vida.

Gráfico N°1



BIBLIOGRAFIA:

- Baqaria S.P., Ray P.S., Wang J., et. al.: Prognostic value of basal phenotype in HER-2-overexpressing breast cancer. *Ann Surg Oncol.* 2012; 19, 935-40.
- Muhammadnejad, A., Keyhani, E., et al.: Overexpression of her-2/neu in malignant mammary tumors; translation of clinicopathological features from dog to human. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2012; 13(12), 6415-21.
- Peña L, Gama A, Goldschmidt MH, et al: Canine mammary tumors: a review and consensus of standard guidelines on epithelial and myoepithelial phenotype markers, HER2, and hormone receptor assessment using immunohistochemistry. *Vet Pathol.* 2014 Jan;51(1):127-45.

PT 22- MODIFICACIONES DEL MEDIO INTERNO EN CANINOS CON INSUFICIENCIA CARDIACA CONGESTIVA

S. González; O. Buzzano ²; J. Artese ¹; M.Jensen ³; E. Falzoni, E⁴

¹Cátedra de Patología Clínica y Enfermedades Médicas FCVUBA; ²Servicio de cardiología HEMV-FCVUBA. ³Servicio de Emergencias EMV-FCVUBA; ⁴ Cátedra de Enfermedades Infecciosas FCV-UBA CABA. Argentina. sebvvet@hotmail.com

Resumen:

Los disturbios del medio interno, electrolíticos y ácido-base, son una complicación frecuente y potencialmente peligrosa en pacientes con insuficiencia cardíaca congestiva (ICC). La identificación temprana de estas alteraciones mediante la gasometría arterial o venosa y el conocimiento de los mecanismos fisiopatológicos son muy importantes para el manejo clínico de estos pacientes y su pronóstico de vida.

Introducción:

La ICC constituye un síndrome clínico que se manifiesta con congestión y edema, mala perfusión periférica y/o hipotensión sistémica. La ICC siempre implica importantes alteraciones hidroelectrolíticas y ácido base como consecuencia del accionar de los mecanismos renales de compensación y de la mala perfusión periférica. Las alteraciones del medio interno pueden ocasionar la descompensación y muerte de los pacientes en estado crítico y/o comprometer la eficacia terapéutica de los fármacos empleados en el tratamiento de la ICC. El siguiente trabajo tuvo como objetivo evaluar la incidencia de trastornos ácido base y electrolíticos en pacientes caninos con insuficiencia cardíaca congestiva avanzada y analizar los mecanismos fisiopatológicos desencadenantes.

Materiales y Métodos:

Se trabajó con 12 caninos atendidos en el Hospital Escuela FCVUBA. La población estudiada correspondía a caninos con signos de insuficiencia cardíaca congestiva. Todos los pacientes fueron sometidos a la clasificación ISACHC (International Small Animal Cardiac Health Council) siendo agrupados en clases IIIa y IIIb según su gravedad. Luego a cada uno se le realizó hemograma- bioquímica general- gases sanguíneos, ionograma y lactato.

Discusión:

Con el análisis de las variables puede evidenciarse que la casi totalidad de los pacientes seleccionados con insuficiencia cardíaca congestiva (ICC) presentaba disturbios del medio interno, tanto ácido base (92%), electrolíticos (92%) y metabólicos (75%). El disturbio ácido base más común fue la acidosis respiratoria o insuficiencia ventilatoria aguda (33%) no compensada, manifestado por el aumento significativo de la Presión de dióxido de carbono venoso (hipercapnia), sin compensación metabólica (aumento del bicarbonato) debido posiblemente a las alteraciones de la distensibilidad pulmonar que caracteriza a los cuadros pulmonares congestivos crónicos y posiblemente asociados al síndrome de insuficiencia

respiratoria global que cursan con hipoxemia arterial e hipercapnia. También puede notarse que un 25 % presentó un disturbio mixto ácido base con acidosis respiratoria y acidosis metabólica. La causa más común de acidosis metabólica es la acidosis láctica producida por el aumento de las concentraciones de lactato en sangre venosa que es producido por las células cuando no reciben un adecuado aporte de oxígeno. En cuanto a los niveles de bicarbonato de los pacientes analizados se observa un leve aumento en los pacientes ISACH IIIb y esto puede explicarse ya que en este grupo de pacientes el disturbio más común fue la acidosis respiratoria simple (sin otro disturbio asociado).

Otro dato muy relevante es la presencia de que un 75% con ICC presentaba hiperazotemia al momento de la consulta lo que evidencia la presencia del síndrome cardíaco renal. Esto no solo es relevante para el conocimiento de la fisiopatología sino también para la terapéutica a implementar ya que los vasodilatadores IECA como el enalapril podrían empeorar estos marcadores renales y no serían los más adecuados en este tipo de pacientes con el síndrome cardíaco-renal.

Conclusión:

Las alteraciones del medio interno son frecuentes en pacientes críticos con ICC y deben valorarse en busca de la estabilización electrofisiológica y hemodinámica que ayuden a la prevención de eventuales complicaciones como las arritmias, la elección del mejor tratamiento farmacológico y el aumento de la sobrevida del paciente con ICC.

Bibliografía:

Kittleson and Kienle Small. Animal Cardiovascular Medicine 2^a edic. Mosby. 2000: pp 335-360. Bonagura, J; Lehmkuhl, L; Autran, H. Treatment with fluids and diuretics in heart failure. In: Di Bartola, editor. Fluid and electrolyte therapy in small animals. Second Edition. Mexico. McGraw-Hill Interamericana. 2002 pp 413-437

Dargie HJ (1990) Interrelation of electrolytes and renin-angiotensin system in congestive heart failure. Am J Cardiol 65:28E-32E 500 Heart Fail Rev (2015) 20:493-503

Sica DA (2005) Hyponatremia and heart failure—pathophysiology and implications. Congest Heart Fail 11:274-277

Gheorghiade M, Hellkamp AS, Pina IL et al (2005) Hemodynamic characterization and prognostic value of persistent hyponatremia in patients with severe heart failure in the escape trial. J Am Coll Cardiol 45:145A

Schrier RW (2006) Water and sodium retention in edematous disorder: role of vasopressin and aldosterone. Am J Med 119:47-53

VIROLOGIA

V1- OBTENCIÓN Y EVALUACIÓN DE CULTIVOS PRIMARIOS DE ORIGEN EPITELIAL PARA EL AISLAMIENTO DE LOS VIRUS CAEV Y ORFV

O. Zabal¹, AM Dodero², R. Reina³, M. Valenzano⁴, AV Peralta^{4*}

¹ Instituto de Virología-CICVyA, ² Área de Sanidad Animal INTA-IIACS-CIAP, ³ IdAB CSIC-UPNA, Navarra, España, ⁴ Instituto de Biotecnología-CICVyA

*E-mail: peralta.andrea@inta.gob.ar

INTRODUCCIÓN

En el diagnóstico confirmatorio de enfermedades virales se suelen emplear técnicas serológicas (ELISA e inmunodifusión en agar AGID) o moleculares (PCR, RT-PCR) para la detección de los agentes virales. Si bien, muchas veces los reactivos necesarios suelen ser caros y poco accesibles al evaluar un gran número de muestras. Además, en muestras biológicas donde la carga viral suele ser baja, las técnicas antes mencionadas suelen presentar limitaciones. La forma de confirmar la presencia del agente viral es obtener su aislamiento en cultivo de células, siguiendo la aparición del efecto citopático característico para cada uno de ellos. Sin embargo, es habitual que la cepas de campo no se adapten a su multiplicación in vitro en líneas celulares establecidas, por lo que muchas veces es necesario recurrir a los cultivos primarios.

El objetivo de este trabajo consistió en la generación de un cultivo primario de origen epitelial ovino y caprino con el fin de obtener un sistema celular que permita el aislamiento de los virus de artritis y encefalitis caprina (CAEV) y el virus ORF (ORFV), agente causal del Ectima contagioso, a partir de muestras sospechosas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron ovinos y caprinos adultos, se los inmovilizó, se realizó la tricotomía de la zona inguinal y los lavados quirúrgicos para luego inyectarle subcutáneamente lidocaína 1% con epinefrina en forma de ele (L) y una vez insensibilizada la zona, se realizó una biopsia, en un primer ensayo de 1cm cuadrado de piel, mientras que en los ensayos subsiguientes se extrajeron explantes longitudinales de 1cm x 5cm. El tejido fue colocado inmediatamente en PBS adicionado con una solución de antibióticos-antimicótico (ATB/ATM) para su traslado refrigerado hasta el laboratorio en menos de 24h. La herida del animal se suturó con puntos simples, desinfectando y previniendo la producción de miasis con el uso de piretroides en aerosol.

El tejido fue lavado dos veces con PBS-ATB/ATM y a continuación se procedió a una disgregación mecánica y enzimática, mediante agitación en una solución de tripsina 0,25% durante 20min a 37°C. Finalizado ese tiempo, se recuperó la solución de tripsina y se centrifugó (800 g, 5 min a temperatura ambiente) obteniéndose el pellet de células. Se repite el procedimiento 5 veces hasta procesar completamente el tejido disgregado.

Todos los pellets celulares recuperados fueron sembrados en botellas de cultivo T75 con medio MEM-D y 10% de suero fetal bovino, con el agregado de una solución de ATB/ATM.

Los cultivos primarios obtenidos Eov (epitelio ovino) y Eca (epitelio caprino) fueron evaluados tomando diferentes criterios: recuperación celular, números de pasajes, viabilidad luego de un ciclo de criopreservación y susceptibilidad a los virus CAEV y ORFV.

Los inóculos virales utilizados para CAEV consistieron en líquido articular de animales con síntomas clínicos y ELISA positivo, mientras que las muestras para ORFV consistieron en el macerado con nitrógeno líquido de costras de ovinos con diagnóstico clínico de Ectima y PCR positiva. Se prepararon monocapas de Eov y Eca en placas de 12 wells y se desafiaron con los inóculos de CAEV y de ORFV y se las observó hasta la aparición del efecto citopático característico para cada virus.

RESULTADOS

Las células epiteliales obtenidas por disgregación del tejido demoraron entre 10 y 20 días en desarrollar una monocapa adherida, se observó que el porcentaje de células tipo fibroblastos fueron las que desarrollaron y completaron la monocapa celular. A partir de estos cultivos se realizaron subcultivos y se criopreservaron en los pasajes n°2, 4 y 6. Luego de un mes crioconservadas (en N2 líquido), fueron descongeladas y se observó una viabilidad del 90% y un crecimiento normal.

A partir del pasaje n°8 para el cultivo Eov y del n°6 para Eca se observa la selección de clones celulares, tipo fibroblásticos, con los cuales se intentará obtener una línea establecida y sensible a los virus de ovinos y caprinos.

En los ensayos para evaluar estos cultivos en cuanto a la susceptibilidad a la infección con los virus CAEV y ORFV se utilizaron los pasajes n°4 para Eca y n°6 para Eov. Para el caso de las células infectadas con líquido articular se observó la formación de sincicios, efecto citopático característico del virus CAEV en cultivo; mientras que en el caso de las células infectadas con ORFV se observó que las células se redondean, pierden adherencia al plástico y forman grumos, efecto citopático descrito en la bibliografía para el virus ORF.

DISCUSIÓN

Fue posible obtener cultivos primarios epiteliales de origen ovino y caprino, estables al menos hasta el pasaje n°8, con alta recuperación luego de su criopreservación y que permite observar el efecto citopático esperado para los virus CAEV y ORFV.

Estos cultivos resulta una valiosa herramienta para lograr el aislamiento de cepas de campo tanto de CAEV como de ORFV, que permitirán luego su confirmación molecular, caracterización y determinación de la variabilidad entre las cepas que circulan en nuestro país.

BIBLIOGRAFIA

Kottaridi et al. 2006. *Veterinary Microbiology* 116: 310-316.

Kuroda et al. 1999 *J Vet Med Sci*, 61:749-753.

Rolland et al. 2004 *J. Virol. Methods*. 118: 123-130.

Agradecimientos

Al Dr. Javier Schapiro (Instituto de Patología, CICVyA); a los veterinarios Juan Micheloud, Virginia Araoz y Luis Colque (INTA-Salta) y a los señores José Alfaro y Emilio Alfaro (responsables del cuidado de los animales en INTA-Salta).

V2-COINFECCIÓN DE ANEMIA INFECCIOSA EQUINA Y TRYPANOSOMOSIS EN EQUINOS DE TRABAJO DE UN ESTABLECIMIENTO DE BASAIL, CHACO

D. Martínez¹, C. Storani¹, R. Jacobo¹, F. Cipolini¹, E. Martínez^{1,2}, Espasandín, A.G.¹

¹ Cátedra de Enfermedades Infecciosas, Facultad de Ciencias Veterinarias- UNNE. ² Cátedra de Enfermedades Parasitarias, Facultad de Ciencias Veterinarias Sgo. Cabral 2189, 3400 Corrientes.

e-mail: demartinez@vet.unne.edu.ar

Introducción

La anemia infecciosa equina (AIE) es una enfermedad causada por un lentivirus, que afecta a equinos de todo el mundo. Es transmitida por vectores hematófagos e iatrogenia. En Argentina es especialmente prevalente en las provincias situadas al norte del país, donde los vectores son abundantes en determinadas épocas del año. Existe una legislación vigente (Resol. SENASA 617/05) que establece la lucha contra la enfermedad a través del diagnóstico serológico de los positivos y su posterior eliminación. Sin embargo en zonas de alta prevalencia se permite la permanencia de equinos positivos a AIE en establecimientos hasta tanto puedan ser eliminados, siempre y cuando se conformen rodeos con un manejo separado de aquellos que están sanos. Por otra parte, la trypanosomosis es una enfermedad parasitaria causada por protozoarios flagelados del género *Trypanosoma* spp., que causa anemia hemolítica en los equinos que la padecen, y es transmitida también por insectos, especialmente tábanos. Los *Trypanosomas* se multiplican activamente y de esta manera producen en el organismo una serie compleja de trastornos que incluyen fiebre inicial de hasta 41° C por 2 ó 3 días que luego cede para volver a aparecer en 8-10 días, de manera que el gráfico de la temperatura es de tipo remitente. Hay anemia hemolítica progresiva, hemoglobinemia, bilirrubinemia y edemas por hipoproteïnemia, pérdida de estado general, trastornos parapléjicos del tren posterior (Mal de Caderas) y salvo casos excepcionales de recuperación total, se llega a la emaciación y la muerte del animal si no se instaura el tratamiento. En la presente comunicación se describe un caso de coinfección de AIE y trypanosomosis en equinos de trabajo de un establecimiento rural del sur de la provincia del Chaco.

Materiales y métodos

El brote se presentó en un rodeo compuesto por 18 equinos de trabajo, de entre 4 y 12 años de edad. Se realizó la evaluación clínica de los animales y la posterior toma de muestras de sangre con anticoagulante (citrato 3,8%) y sangre entera para la obtención de suero. El diagnóstico de AIE se realizó conforme a lo reglamentado por SENASA (Resol. 617/05) mediante Test de Cogins (inmunodifusión en gel de agar). Para el diagnóstico de *Trypanosoma* spp. se realizó la observación parasitológica de extendidos teñidos con Tinción 15 (Lab. Biopur). Se estimó además el valor de hematocrito en cada uno de los caballos analizados, antes y después de instaurado un tratamiento.

Resultados

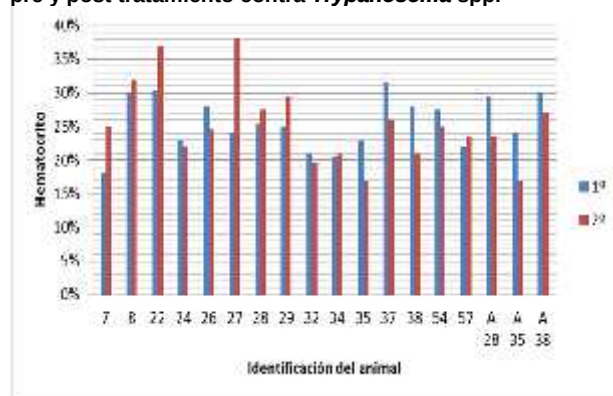
Los equinos analizados presentaban una serie de signos que se desarrollaron a lo largo de 10 a 15 días previos a la realización de este estudio y que consistieron en letargia, anorexia, adelgazamiento, pérdida de pelo y desprendimiento de la piel en forma de pequeñas costras. Al momento de la evaluación las mucosas de todos los animales afectados se hallaban pálidas, y en algunos de ellos se observaba tambaleo y marcha paresiente, con cabeza gacha y evidentes signos de fatiga. De los 18 equinos evaluados para ambos diagnósticos, se registraron 16 positivos a AIE y en 4 de ellos se observó la presencia de hemoparásitos compatibles con *Trypanosoma* spp. Los valores de hematocrito, estimados en el momento del diagnóstico, se situaron en un rango de entre 18 y 31,5%, todos ellos inferiores a lo normal.

Se interpretó que esta situación se correspondía con un brote de trypanosomosis, basados en que en 4/18 (22,2%) de los animales pudo observarse el hemoparásito, en coinfección con AIE. Actuando conforme a reglamentación, se procedió a conformar un rodeo separado con los animales enfermos y realizar tratamiento específico para *Trypanosomas* spp. mediante la utilización de Daceturato de Diminzaina (Ganaseg compuesto®) en un protocolo que consiste en la utilización de 7 mg/kg, una vez por semana, durante 3 semanas consecutivas (Da Silva *et al.* 2009). Se admi-

nistró además suplementos de hierro y vit. B12 inyectables, desparasitación contra vermes gastrointestinales y suplementación alimentaria para favorecer su recuperación.

En el gráfico 1 se resumen los resultados del hematocrito pre y post tratamiento de los equinos incluidos en el estudio.

Gráfico 1. Valores de hematocrito en 18 equinos de trabajo, pre y post tratamiento contra *Trypanosoma* spp.



Discusión y Conclusiones

La AIE es altamente prevalente en la provincia del Chaco, y esta situación era evidente en este rodeo caballar. La coinfección de los equinos de la zona con el virus de la AIE y otros agentes que causan discrasias sanguíneas, como los parásitos del género *Babesia* spp. y *Trypanosoma* spp., es de ocurrencia frecuente, sucediendo habitualmente que no se insiste en el diagnóstico de los hemoparásitos luego de verificar que el equino posee anticuerpos contra AIE, y esto genera una atención insuficiente de casos clínicos donde los agentes actúan combinando sus acciones patógenas. Es sabido que el diagnóstico parasitológico mediante observación de frotis tiene una sensibilidad moderada, sin embargo, la combinación de esto con el valor de los hematocritos y la anamnesis permitieron identificar el brote. Monzón *et al.* (1990), recomiendan la combinación de técnicas diagnósticas para la identificación de los equinos infestados. El tratamiento de elección para la trypanosomosis son las formulaciones con quinapiramina, sin embargo, esta droga no se comercializa en Argentina. Ante tal situación, se eligió tratar con Daceturato de Diminzaina, que según prospecto, está indicada para el control de la trypanosomosis equina. Sin embargo, se eligió el protocolo publicado por Da Silva *et al.* (2009), por estar demostrado ser más eficaz y que utiliza el doble de la dosis recomendada y tres aplicaciones consecutivas. Sin embargo y como puede observarse, algunos equinos poseían un hematocrito inferior en la segunda estimación, y esto podría deberse a que la hemólisis haya continuado luego de la primera toma de muestras, a pesar de la administración de fármacos para el control del *Trypanosoma*. Esto refuerza la necesidad de usar protocolos más complejos que los recomendados por el fabricante, como el que se eligió en este caso.

Se concluye que en todos los casos de equinos con sintomatología compatible, debería extenderse el diagnóstico hacia todas las enfermedades anemizantes endémicas en la región.

Bibliografía

SENASA, REGLAMENTO SANITARIO EQUINO - Res. SAGP y A N° 617/05.

Da Silva, A.S.; Zanette, R.; Otto, M.; Gressler, L.; Lima Pereira, P.; Gonzalez Monteiro, S. Aceturato de Diminazeno no tratamiento de equinos infectados naturalmente por *Trypanosoma evansi* no municipio de Cruz Alta- RS, Brasil.

Monzón, C.M., Mancebo, O.A., Rpuj, J.P. Comparison between six parasitological methods for diagnosis of *Trypanosoma evansi* in the subtropical area of Argentina. *Veterinary Parasitology*, v.36, p.141-146, 1990.

V3- DETECCIÓN DEL HERPESVIRUS BOVINO 4 EN EL TRACTO REPRODUCTIVO BOVINO DURANTE LOS ESTADIOS INICIALES DE LA GESTACIÓN

A. Verna ^{1,2}, F. Hozbor⁴, R. Ramírez Vasquez², E. González Altamiranda², G. Cantón⁵, P. Morán³, S. Pereyra¹, M. Leunda¹, A. Odeón¹, S. Pérez ^{2,3}

1. Laboratorio de Virología, Departamento de Producción Animal, INTA, Balcarce, Buenos Aires. 2 Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Buenos Aires. 3. CIVETAN, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA, Tandil, Buenos Aires. 4. Laboratorio de Reproducción, Departamento de Producción Animal, INTA, Balcarce, Buenos Aires. 5. Laboratorio de Patología, Departamento de Producción Animal, INTA, Balcarce, Buenos Aires. seperez@vet.unicen.edu.ar

Introducción. El herpesvirus bovino 4 (BoHV-4) pertenece a la familia *Herpesviridae*, subfamilia *Gammapherpesvirinae*, género *Rhadinovirus* (Zimmermann et al., 2001). Aunque el virus fue aislado de bovinos con diversos cuadros clínicos, ya sea como único agente o asociado a otros patógenos, también se lo aisló de animales clínicamente sanos; lo cual ha generado controversias sobre el verdadero rol del BoHV-4 como patógeno primario. En Argentina, BoHV-4 se aisló por primera vez en el año 2007, a partir de muestras de mucus-cervico vaginal de vacas que abortaron y que fueron remitidas al Servicio de Diagnóstico Veterinario Especializado (SDVE) del INTA Balcarce (Verna et al., 2008). Desde 2008 hasta la fecha, se cuenta con más de 50 aislamientos del virus, provenientes principalmente de muestras de secreciones vaginales de vacas con trastornos reproductivos, de ovocitos bovinos destinados a fecundación *in vitro* (González Altamiranda et al., 2015) y de semen congelado de un centro de reproducción (Lomónaco et al., 2009, Morán et al., 2013), entre otras muestras. El análisis filogenético de cepas argentinas de BoHV-4 demostró que las mismas se distribuyen en grupos genéticamente distintos: Genotipo 1 (correspondiente al prototipo europeo), Genotipo 2 (prototipo americano) y Genotipo 3, un nuevo grupo sólo descrito en Argentina (Verna et al., 2012).

El objetivo de este estudio fue evaluar la patogenicidad de una cepa de BoHV-4 durante los estadios iniciales de la gestación en un modelo de infección experimental en el bovino.

Materiales y Métodos. Se utilizaron 6 hembras bovino adulto, libres de infecciones reproductivas cuyos ciclos estrales fueron hormonalmente sincronizados y recibieron servicio natural durante 24 hs. El monitoreo de la gestación se realizó semanalmente mediante ecografía. A los 30 días de gestación (diagnóstico ecográfico, Aloka SSD 500), 5 vacas fueron inoculadas vía intranasal con la cepa denominada 10/154 de BoHV-4 (genotipo 2) a una dosis de 10 ml a 10⁶ TCID₅₀/ml. Una hembra gestante, inoculada con medio de cultivo, se utilizó como control. Se colectaron muestras de sangre con anticoagulante para obtener leucocitos (*buffy coats*), hisopados nasales y oculares semanalmente post-inoculación. Los animales se sacrificaron en un matadero comercial a los 83 días post-inoculación (dpi) (113 días de gestación), donde se obtuvieron muestras de tejido del tracto reproductivo, placenta y fetos. Las muestras se destinaron a aislamiento virológico y detección de ADN viral por *nested*-PCR para el ORF25 de BoHV-4 (Fabian y Egyed, 2004).

Resultados. Ninguno de los animales inoculados presentó signos clínicos y no se detectaron muerte embrionaria o abortos. No se logró aislar BoHV-4 de los hisopados nasales,

oculares, o de muestras de tejidos maternos, placentas o fetos. Sólo fue posible el aislamiento de BoHV-4 de leucocitos circulantes de las vacas inoculadas a los 11 dpi. Mediante *nested*-PCR fue posible detectar consistentemente genoma de BoHV-4 de las muestras de útero y cérvix. Las muestras de ovario resultaron negativas. También fue posible detectar ADN de BoHV-4 en sistema nervioso, fluido de cavidad abdominal y pulmón de dos fetos recolectados de vacas inoculadas. Las muestras provenientes de la vaca sin inocular resultaron negativas.

Discusión. En el presente trabajo se demostró que la cepa de BoHV-4 utilizada en este estudio, representativa del grupo filogenético más frecuentemente detectado en nuestro país, es capaz de infectar los tejidos del tracto genital y del feto bovino. Aunque en este estudio no fue posible detectar BoHV-4 en los ovarios, estudios previos de González Altamiranda et al. (2015) demostraron que el virus infecta las células de la granulosa de los ovocitos utilizados para fecundación *in vitro*. Si bien el rol patogénico de BoHV-4 en los trastornos reproductivos aún no está esclarecido, este trabajo aporta información relevante sobre la capacidad de infección y distribución del BoHV-4 en estos tejidos. Se requieren estudios adicionales para determinar la relación de BoHV-4 con el aborto bovino y sobre las consecuencias de la infección en estadios más avanzados de la gestación.

Bibliografía

1. Zimmermann W, Broll H, Ehlers B, Buhk HJ, Rosenthal A, et al. (2001) Genome sequence of bovine herpesvirus 4, a bovine Rhadinovirus, and identification of an origin of DNA replication. *J Virol* 75: 1186–1199.
2. Verna AE, Leunda MR, Louge Uriarte EL, Lomónaco M, Pereyra SB, Odeón AC. 2008. First virologic evidence of Herpesvirus bovino tipo 4 (BoHV-4) en Argentina. *Rev. Arg. Microbiol.* 40(1):54-55.
3. Lomonaco, M., De Stefano, G., Legisa, D., Gonzalez, C., Leunda, M.R., Odeón, A., Verna, A. 2009. Finding of Bovine herpesvirus type 4 (BoHV-4) in bovine semen from reproduction center. XXIX Reunión Científica Anual de la Sociedad Argentina de Virología División de la Asociación Argentina de Microbiología. Córdoba, Prov. Buenos Aires.
4. Morán, P., Favier, M., Lomónaco, M., Catena, L., Chiapparrone, A., Odeón, A., Verna, 2013. Search for the genome of bovine herpesvirus types 1, 4 and 5 in bovine semen. *Open Vet Journal.* 3 (2), 126-130.
5. Verna AE; Manrique JM; Pérez SE; Leunda MR; Pereyra SB; Jones LR; Odeón AC. 2012. Genomic analysis of bovine herpesvirus type 4 (BoHV-4) from Argentina: high genetic variability and novel phylogenetic groups. *J Vet Microbiol.* 9; 160(1-2):1-8.
6. González Altamiranda, E., Manrique, J., Ríos, G., Odeón, A., Leunda, M., Pérez, S., Jones, L., Verna, A. 2015. Molecular characterization of the first bovine herpesvirus type 4 (BoHV-4) isolates from in vitro bovine produced-embryos in Argentina. *PlosOne.* 10 (7):1-10.
7. Fabian K, Egyed L. 2004. Detection of bovine gammaherpesviruses by a nested duplex PCR. *J Virol Meth.* 115:93-8.

V4- CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DEL VIRUS ORF EN BROTES DE ECTIMA CONTAGIOSO QUE OCURRIERON EN LA PATAGONIA ARGENTINA DURANTE EL AÑO 2014

M. Navarro¹, C. A. Robles², M. Valenzano¹, M. Aguilar³, A. Martínez², A. Peralta^{1*}

¹ Instituto de Biotecnología-CICVyA, ²Grupo de Salud Animal, INTA-Bariloche. ³ AER, INTA San Julian

*e-mail: peralta.andrea@inta.gob.ar

Introducción

El Ectima contagioso (EC) es una enfermedad de origen viral de la piel (dermatitis pustular contagiosa) que afecta principalmente ovejas y cabras pero puede afectar también a otros rumiantes y animales salvajes. Los casos en el hombre están siempre asociados a veterinarios, trabajadores rurales o de plantas industriales que tienen contacto con cueros y lanas. Si bien la enfermedad es relativamente benigna, su presencia en el rebaño genera pérdidas económicas y actualmente es considerada una zoonosis de distribución mundial. El agente etiológico del EC, es el virus Orf (ORFV), el cual pertenece al género *Parapoxvirus*, dentro de la familia *Poxviridae*. El virus es muy resistente a la desecación y puede permanecer muchos años en costras secas de animales que padecieron la enfermedad. Estas se pueden esparcir en las pasturas logrando una alta dispersión geográfica. La transmisión se da principalmente por contacto con animales infectados o con sus costras.

El objetivo general de este trabajo fue caracterizar a nivel molecular las cepas de ORFV que causaron brotes de Ectima en majadas ovinas y caprinas de la Patagonia durante el año 2014, con el fin de determinar el número y variabilidad de cepas que circulan en la región.

Materiales y métodos

Los brotes de Ectima que se analizaron en este trabajo ocurrieron entre los meses de septiembre y noviembre de 2014, en establecimientos ovinos y caprinos de cuatro provincias patagónicas. Los establecimientos ganaderos eran cercanos a las localidades de: Pichi Neuquén (Neuquén), Pilcaniyeu (Río Negro), Comallo (Río Negro), Tecka (Chubut) y San Julián (Santa Cruz). Se tomaron muestras de costras en animales con diagnóstico clínico de Ectima en diferentes localidades de Patagonia por veterinarios integrantes del Sistema Regional de Salud Animal (SIRSA) del INTA Bariloche.

Las costras fueron disgregadas mecánicamente y se extrajo el ADN utilizando el kit QIAamp DNA mini kit (Qiagen). Se realizó una PCR basada en la amplificación del gen ORF045 (Kottaridi y col. 2006) con la finalidad de confirmar el diagnóstico clínico.

Luego se procedió a la amplificación por PCR de tres marcadores moleculares: los genes ORF020, ORF109 y ORF127. Los genes ORF020 y ORF127 codifican para proteínas que interfieren con la respuesta inmune del hospedador, mientras que el gen ORF109 codifica para una proteína de superficie del virus que es inductora de anticuerpos neutralizantes. Los amplicones obtenidos fueron purificados y enviados a secuenciación por el método de Sanger en la unidad de Secuenciación y Genotipificación del CICVyA.

Las secuencias obtenidas fueron comparadas con las secuencias de tres cepas de referencia depositadas en el GeneBank y con las secuencias de las dos cepas argentinas caracterizadas hasta el momento (Peralta y col. 2015). Se establecieron las relaciones filogenéticas computando las distancias genéticas entre los distintos virus (programa MEGA5; Kimura-2p, Nei-Hong-Joinig, bootstrap de 1000).

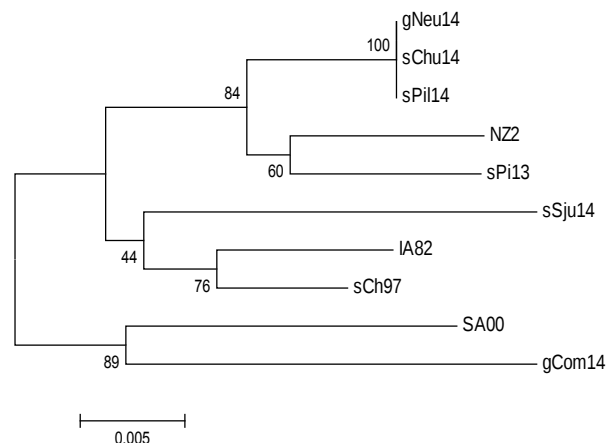
Resultados

En la figura 1 se muestra la relación filogenética en el gen ORF020 entre las cepas de ORFV argentinas y las tres cepas de referencia. Las cepas que causaron los brotes en Pichi Neuquén (gNeu14), Tecka (sChu14) y Pilcaniyeu (sPil14) son idénticas para este marcador y están relacionadas con la cepa que causó el brote en Pilcaniyeu 2013 (sPil13).

En la figura 2 se muestra la relación filogenética en el gen ORF109. Nuevamente se observa que las cepas gNeu14, sChu14 y sPil14 son idénticas, aunque para este marcador no se observa una relación con la cepa sPil13.

Finalmente, en la figura 3 se muestra la relación filogenética en el gen ORF127, donde se observa una vez más que las cepas gNeu14, sChu14 y sPil14 son idénticas entre sí y diferentes a las

cepas que causaron otros brotes durante el mismo período en la región patagónica.



Discusión

En este trabajo se analizaron 5 aislamientos de virus ORF, de brotes ocurridos en cuatro provincias patagónicas y del mismo se concluye que (1) la cepa que causó el brote en Pilcaniyeu 2014 es diferente a la que ocasionó el brote en la misma majada pero en el año 2013 (2) los brotes ocurridos en los establecimientos de Pilcaniyeu (Río Negro), Tecka (Chubut) y Pichi Neuquén (Neuquén) en 2014 fueron causadas por la misma cepa viral (3) la cepa que causó el brote en San Julián (Santa Cruz) se encuentra distante filogenéticamente del resto de las cepas argentinas conocidas, al menos en 2 de los 3 marcadores analizados, mientras que la cepa que causó el brote en un establecimiento de caprinos en la localidad de Comallo (Río Negro) es distante filogenéticamente en los tres marcadores en estudio (4) durante septiembre y noviembre de 2014, en la región patagónica, circularon al menos tres cepas distintas de virus ORF.

Esta co-circulación de cepas de virus ORF también fue observada en Brasil por Abrahao y col (2012) aunque en un intervalo de tiempo mayor al reportado en este trabajo.

Cabe destacar que cepas idénticas del virus afectaron tanto a ovinos (sChu14 y sPil14) como caprinos (gNeu14), esto indicaría que la co-infección entre especies puede ocurrir en establecimientos donde se crían ambas especies con estrecho contacto.

Estos hallazgos podrían explicar en parte los diferentes cuadros clínicos que suelen observarse a campo y las fallas vacunales que los productores suelen reportar.

Bibliografía

- Abrahao et al. 2012. Veterinary Record. DOI:10.1136.
- Kottaridi et al. 2006. Veterinary Microbiology 116: 310-316.
- Peralta et al., 2015. Virus Genes. 50:381-388
- Robles C y Olaechea F. (2001). Ediciones INTA- ISBN 987-521038-2.

V5- DETECCIÓN DE ANIMALES persistentemente infectados con el virus de la diarea bovina en suero mediante un método serológico de alto rendimiento

M-Trotta¹, M Lavoria¹, M.E Quintana², N Cardoso², A Capozzo,²

1 INTA, Instituto de Virología, Centro de Investigaciones en Ciencias Veterinarias y Agronómicas. Buenos Aires, Argentina.

2 Consejo Nacional de Investigaciones Científico y Técnicas (CONICET).

trotta.myrian@inta.gov.ar

Introducción

El virus de la diarrea viral bovina (VDVB) es uno de los patógenos más comunes de los bovinos en el mundo que ocasiona considerables pérdidas económicas en la industria ganadera. Una de las claves en el control del VDVB es la identificación y eliminación de los animales persistentemente infectados (PI), que son inmunotolerantes al virus y mantienen su circulación en los rodeos. A la hora de seleccionar una técnica para propósitos de "screening" en un programa de control y erradicación, es importante elegir una prueba con una alta sensibilidad que permita identificar a los animales que son verdaderamente libres de la enfermedad.

Dado que la muestra a la que más fácilmente se accede en los laboratorios regionales es suero, nos propusimos desarrollar un ensayo ELISA-luminométrico asistido por filtración-"FAL ELISA" (por su sigla en inglés) lo suficientemente sensible como para que pueda utilizarse para detectar una proteína no-estructural (proteína NS3) del VDVB en muestras de suero.

Materiales y Métodos

El protocolo estándar de la técnica queda establecido según se detalla a continuación: placas de PVDF desarrolladas en forma personalizada se activan con metanol durante 60 segundos. El metanol se elimina por filtración en vacío y se lava con PBS1x. A continuación se añade un anticuerpo específico policlonal de captura y se deja incubando 30 minutos a temperatura ambiente (Tamb). La solución de captura se retira por filtración y se lava continuando con el paso de bloqueo durante 90 min a Tamb. Las muestras de suero previamente centrifugadas y filtradas, se procesan diluidas en buffer de bloqueo (dil 1:10) así como también los controles positivo y negativo. La incubación de dichas muestras se realiza durante 20 minutos a Tamb para luego proceder a su filtrado por vacío y lavar la placa de ensayo. Se añade el anticuerpo monoclonal anti NS3 conjugado con peroxidasa (1:2000) diluido en buffer de bloqueo incubándose por 40 minutos a Tamb. Por último, se lava y adiciona luminol Sigma® (según condiciones del fabricante). La lectura tiene lugar después de 5 minutos de incubación en luminómetro con un tiempo de integración de 0, 1s. Las lecturas en unidades relativas de luz (RLU) se transfirieron a una planilla de Excel. Cada placa se valida con respecto a la señal de ruido de valores (pocillos donde solo se incubaba el buffer de dilución -NIL- por duplicado). Para cada muestra y controles los valores de cRLU se obtienen de la relación entre las lecturas de RLU respecto al NIL.

1-FAL ELISA sobre pools de sueros: se contaminó un suero normal bovino con la mínima cantidad de NS3 determinable por la técnica y dicho suero así preparado se mezcló con diferentes sueros normales agregando un suero por vez.

2-FAL ELISA para detección de animales PI: 121 muestras fueron analizadas tanto FAL ELISA como por ELISA de antígeno NS3 (PrioCHECK® BVDV Ag PI-plus®). Asimismo, momento de escritura de este resumen se analizaron 6 muestras por FAL ELISA y RTnPCR (tomada como técnica gold standard).

Resultados:

Para iniciar la puesta a punto de la técnica diagnóstica se procedió a establecer el tiempo de activación de las placas (60 segundos) y la concentración óptima de metanol (concentrado). Luego se realizó el ajuste de la dilución de uso del anticuerpo policlonal de cabra utilizado como captura, siguiendo los lineamientos establecidos en publicaciones anteriores de nuestro grupo (3, 4). La misma quedó establecida 1:500 en PBS1X durante 30 minutos a temperatura ambiente. El agente bloqueador más eficaz fue el tampón que permitió mínimas interacciones inespecíficas, que coincidió con el ya reportado (3, 4). El paso de bloqueo se estableció en 90 minutos a temperatura ambiente. En cuanto al detector de la reacción inmunológica la dilución de uso del mismo quedó establecida

como 1:4000 en PBS1X, incubándose durante 40 minutos a temperatura ambiente.

Para obtener el control positivo del ensayo se infectaron células MDBK (confluencia 75-80%) con una MOI 0.05 empleando virus Singer citopático (de 6.55×10^6 TCDI/50ml). Las botellas infectadas fueron congeladas y descongeladas y luego clarificadas por centrifugación. Como control negativo se utilizó el sobrenadante de células MDBK sin infectar. La dilución óptima de uso en FAL ELISA quedó determinada en 1:10 para el control positivo y 1: 5 para el control negativo. Para los controles se realizó el estudio de reproducibilidad en seis análisis independientes y se obtuvo el Desvío Estándar (D.E) y el porcentaje de coeficiente de variación (CV%) respectivos para cada control.

La sensibilidad analítica: se estudió realizando diluciones de sobrenadantes de células MDBK infectadas con VDVB de título conocido. Se ajustó la suspensión viral al número de partículas por unidad de volumen. Comparativamente se realizó el mismo procedimiento con un ELISA anti NS3 comercial.

FAL ELISA sobre pools de sueros: es posible detectar NS3 en pools de hasta 5 sueros negativos sin perder sensibilidad diagnóstica.

FAL ELISA para detección de animales PI: se estudiaron muestras de suero de establecimientos con animales que presentaban sintomatología compatible con BVDV y animales sin sintomatología. 121 animales analizados por FAL ELISA al también se analizaron por ELISA de antígeno NS3 (PrioCHECK® BVDV Ag PI-plus®) se halló una concordancia del 0.7 entre ambas técnicas. Asimismo, un total de 6 muestras de suero analizadas por FAL ELISA se compararon con su estudio por RTnPCR, donde cuatro de las muestras fueron positivas y solo una negativa empleando ambos tests. Solo una de las muestras que resultó positiva por RTnPCR no fue detectada como tal mediante el FAL ELISA. La concordancia entre ambas técnicas, si bien hasta el momento se analizó un número acotado de muestras, resultó buena (0.83).

Discusión

Esta técnica posibilita una detección rápida y eficaz de antígenos de BVDV en suero. con la consecuente posibilidad de proveer a los laboratorios nacionales de una técnica de screening para detectar la presencia de animales PI. Asimismo, dicha técnica tiene un importante potencial debido a que puede detectarla presencia de antígenos del VDVB en pools de muestras, facilitando el screening de los rodeos por serología.

Bibliografía

- 1-Lindberg AL, Alenius S. Principles for eradication of bovine viral diarrhoea virus (VDVB) infections in cattle populations. *Vet Microbiol*. 1999 Jan;64(2-3):197-222.
- 2-Misty A, Edmondson, M, Daniel Givens, Paul H. Walz, Julie A. Gard, David A. Stringfellow, Robert L. Carson. Comparison of tests for detection of bovine viral diarrhoea virus in diagnostic samples. *J Vet Diagn Invest*. 2007; 19:376-381.
- 3-Alejandra Victoria Capozzo, Manuel Rosendo Martínez, Wilhelmus Joseph Gerardus Schielen. Development of an in process control filtration-assisted chemiluminometric immunoassay to quantify foot and mouth disease virus (FMDV) non-capsid proteins in vaccine-antigen batches. *Vaccine* 2010; 28: 6647-6652.
- 4-Maximiliano Wilda, María Ángeles Lavoria, Adrián Giráldez, Olga Lucía Franco-Mahecha c, Florencia Mansilla, Matías Érguiz, Marcela Elvira Iglesias, Alejandra Victoria Capozzo. Development and preliminary validation of an antibody filtration-assisted single dilution chemiluminometric immunoassay for potency testing of *Piscirickettsia salmonis* vaccines. *Biologicals* 2012; 40: 415-420.

V6- BROTE DE ENFERMEDAD VESICULAR EN UN RODEO DE CRIA DEL PARTIDO DE CHASCOMÚS. BUENOS AIRES. ARGENTINA: APROXIMACIÓN DIAGNÓSTICA PRELIMINAR

L.A Di Paolo^{1,2} ; M.F Alvarado Pinedo¹; M.D Ancinas¹; J. Zeberio³; G.E Travería¹

¹ Centro de Diagnóstico e Investigaciones Veterinarias (CEDIVE) FCV.UNLP. ² Cátedra de Patología Médica UNLP.FCV. ³ Residente del CEDIVE. E-mail: ladipaolo@fcv.unlp.edu.ar

Introducción: Las estomatitis vesiculares del bovino suelen ser la manifestación clínica de la infección por varios tipos de virus, que afectan a éstos y a otros animales de producción. El virus de la Fiebre Aftosa (FA) es el principal agente productor de estomatitis vesicular en los rumiantes; debido a que Argentina posee el estatus sanitario de país libre de FA con vacunación, la detección de animales con signología clínica compatible obliga a realizar un diagnóstico diferencial preciso con otras enfermedades virales que se manifiestan con lesiones similares; dentro de estas se encuentran la Diarrea Viral Bovina (DVB), Rinotraqueitis Infecciosa bovina (IBR), Lengua Azul (LA) y Estomatitis Vesicular (EV).

Materiales y Métodos: Descripción del caso: El brote se presentó en mayo de 2016. El lote afectado estaba conformado por 63 vacas y 1 ternera lactante. Los animales se alimentaban con rollo de moha y pastura natural. Los casos clínicos se observaron durante aproximadamente 15 días. En este lapso enfermaron 13 animales adultos y la ternera lactante (hija de una vaca enferma). Los signos fueron pérdida considerable de condición corporal, sialorrea y dificultad para aprehender los alimentos. Algunos animales presentaron leve hipertermia. Al explorar la cavidad bucal se observó la presencia de múltiples erosiones y úlceras en cara interna de carrillos, lengua y paladar duro. Estas lesiones presentaban desprendimiento de mucosa y dejaban expuestas heridas sangrantes. En un solo caso se observó la presencia de dos pequeñas vesículas, una sobre el vértice de la lengua, y otra sobre la encía inferior. También se detectaron lesiones tipo pápulas, de color amarillentas, debajo de la lengua. Éstas mostraban tendencia a coalescer. Algunos animales presentaron una severa glositis, con aparente retracción cicatrizal.

Muestreo y pruebas diagnósticas: Se extrajeron muestras de sangre de la vena yugular sin anticoagulante y con anticoagulante (EDTA y heparina). Se derivaron al Laboratorio Central del SENASA 8 muestras de suero para realizar ELISA para DVB, IBR, LA (también se realizó inmunodifusión en gel de agar) y EV (cepa Indiana y New Jersey). En el CEDIVE se realizó virusneutralización (VN) para IBR, DVB, aislamiento viral y cultivo bacteriológico. A 3 animales se les realizó serología pareada en búsqueda de seroconversión. Cuatro muestras de sangre con heparina se sembraron en línea celular MDBK para aislamiento viral. Hisopados de lesiones bucales se sembraron en medio Agar Tripticasa Soya (ATS) y se incubaron en estufa a 37 °C. Tres muestras de sangre con EDTA se remitieron al Laboratorio Central de la FCV.UNLP para la realización de hemogramas.

Resultados: Todos los sueros procesados por ELISA resultaron positivos a IBR; y 5 sueros también fueron positivos a EV cepa Indiana. Los resultados de VN se muestran en la tabla n° 1. A la fecha, en la primer lectura del cultivo virológico no se observó efecto citopático (se realizarán al menos 2 pasajes más). Los cultivos bacteriológicos presentaron desarrollo de flora variada no patógena. Los hemogramas no mostraron alteraciones a destacar.

Identificación	DVB	IBR
1	1/2024	1/16
2	1/512	1/128
3	1/256	1/128
4 (1° muestreo)	1/1024	1/16
(2° muestreo)	1/1024	1/32
5 (1° muestreo)	1/512	1/8
(2° muestreo)	1/256	1/8
8 (1° muestreo)	1/512	1/128
(2° muestreo)	1/512	1/128
13	1/128	1/128
14	1/64	1/32

Tabla n° 1

Discusión: La morbilidad fue del 20% y la letalidad nula. Las lesiones se limitaron pura y exclusivamente a la cavidad oral. No se observaron lesiones en ubres, ni en pezuñas como describe la bibliografía para algunas de estas infecciones virales. Los 8 sueros analizados por ELISA fueron positivos a IBR y negativos a DVB. Cuando se procesaron por VN todos los animales presentaron títulos a ambas enfermedades, pero en ningún caso se observó seroconversión. Ambos virus se presentan en nuestros rodeos con una alta seroprevalencia, por lo que la búsqueda de seroconversión es clave en el diagnóstico. Cinco sueros fueron positivos a EV cepa Indiana. Este dato resulta relevante debido a que se trata de una enfermedad exótica; por lo tanto en los rodeos no debieran existir anticuerpos naturales ni vacunales. La casi no observación de vesículas en los animales estudiados es coincidente con lo mencionado en la bibliografía consultada, donde se describe que las vesículas duran muy pocas horas como tal, antes de romperse y pasar a erosiones; o directamente no se forman. En infecciones experimentales con el virus de la EV sólo el 30 % de las lesiones forman vesículas. En los animales de carne rara vez se presentan lesiones en las ubres y en las pezuñas; sin embargo en rodeos de leche las lesiones en ubres pueden ser severas. No se registraron movimientos de animales en el establecimiento que pudieran ser asociados al ingreso de la infección. La presentación del brote en mayo (antes de las heladas) muestra correlación con la forma de transmisión del virus de la EV; quien es transmitido por distintas especies de moscas, tábanos y mosquitos. Este modo de difusión hace que los brotes tiendan a desaparecer con las primeras heladas. Esto se asocia a la muerte, o a la menor actividad de los insectos. En este caso, a partir de los primeros días de junio no aparecieron nuevos enfermos, y el brote mostró tendencia a desaparecer. La aparición repentina de esta enfermedad en Argentina fue comunicada a mediados del año 2015 por SENASA; quién hizo referencia a dos brotes ocurridos en las provincias de Santa Fe y Santiago del Estero en vacas Holando Argentino. Las características epidemiológicas del caso, las lesiones y los estudios complementarios preliminares de laboratorio son compatibles con el diagnóstico de estomatitis vesicular.

Bibliografía: 1- Grant Maxie M, Youssef S. Alimentary system. In: Grant Maxie M., ed. Jubb, Kennedy, and Palmer's. Pathology of Domestic Animals. 5th ed. Elsevier, USA. Vol 2: 137-164, 2007.

2- Radostits OM, Gay CC, Blood DC, Hinchcliff KW. Medicina Veterinaria. Tratado de las enfermedades del ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino. 9° edición, Ed: McGraw-Hill-Interamericana de España S. A.U..Vol 2:1254-1268, 2002.

V7- ARTRITIS Y ENCEFALITIS CAPRINA EN LAS PROVINCIAS DE SALTA Y JUJUY

AM Dodero¹, VH Suarez¹, AO Salatin¹, NA Raia², GB Pinto².

¹Area de Sanidad Animal INTA-IIACS-CIAP ² Instituto de Virología-CICVyA

*E-mail: dodero.ana@inta.gob.ar

Introducción

El virus de la artritis y encefalitis caprina (CAEV) pertenece al grupo génico simple de los lentivirus rumiantes menores (SRLV) de la familia *Retroviridae*, afecta a ovinos y caprinos transmitiéndose naturalmente entre ambas especies y puede producir cuatro formas clínicas clásicas: pulmonar, nerviosa, mamaria y articular.

En la Argentina se detectó serológicamente por primera vez en ovinos en 2001 en la provincia de Río Negro. Y a partir de entonces se lo ha detectado con prevalencias crecientes en casi todo el país¹.

A fin de caracterizar la presencia general de enfermedades en las majadas caprinas de la región del noroeste argentino, se llevó a cabo una encuesta sanitaria a productores caprinos, con toma de muestras biológicas para el diagnóstico de diferentes enfermedades en la que fue incluida CAEV². Este trabajo tiene como propósito mostrar la situación epidemiológica de la enfermedad en las provincias de Salta y Jujuy a través de las seroprevalencias obtenidas entre los años 2011-2016.

MATERIALES Y MÉTODOS

Entre abril y noviembre de 2011 a 2016 se realizó una encuesta *ad hoc* a propietarios caprinos que con la ayuda de fotos de patologías, en la misma se recabaron datos de manejo general y sanitario en particular en 78 establecimientos de las ecorregiones de Quebradas Áridas (QA), Chaco Salteño (CS) y Valles Templados (VT) de las provincias de Salta y Jujuy. Se tomaron muestras de suero (S) de entre 20 y 25 hembras adultas por establecimiento.

Se procesaron los sueros para el diagnóstico de diferentes patologías y se realizó la prueba de Elisa IDEXX CAEV/MVV Total Ab, según las recomendaciones del fabricante para detectar anticuerpos específicos contra CAEV. Mientras que la prueba IDEXX MVV/CAEV p28 Ab *Verification* fue utilizada como método confirmatorio.

RESULTADOS

El resumen de los establecimientos evaluados por ecorregión, provincias y prevalencias se presentan en la tabla 1.

Tabla 1: Establecimientos, ecorregiones, provincia, número de establecimientos positivos, número de establecimientos negativos, prevalencias por ecorregión e intra-majada (%).

	QA	CS	VT
Establecimientos zona	40	37	1
Salta	10	37	1
Jujuy	30	0	0
Positivos	1	1	1
Negativos	39	36	0
Prev. ecorregión	2,5%	2,7%	100%
Prev. Intra-majada	4,8%	10%	55%

Se detectó un establecimiento positivo en cada ecorregión, que equivale a un 3,8% de prevalencia para Salta-Jujuy. No se hallaron casos positivos en la provincia de Jujuy mientras que

la prevalencia en la provincia de Salta fue de 6,25%. Los establecimientos positivos evaluados por ecorregión tuvieron valores de 2,5% en QA, 2,7% en CS y 100% en VT, mientras que los resultados intra-majada fueron de 4,8% QA, 10% CS y 55% VT.

DISCUSIÓN

En la zona de QA de la provincia de Jujuy no se presentaron reactores en ningún establecimiento, mientras que si lo hubo en QA de Salta en una unidad que poseía animales lecheros cruza Saanen con una prevalencia baja. En el CS la prevalencia fue mayor con predominio de animales criollos y cruza Anglo Nubian, también dedicados a la producción láctea, mientras que el caso positivo de VT de alta prevalencia, se dio en un tambo comercial, con manejo semi-intensivo de caprinos Saanen. Estos resultados contrastan con los presentados por Trezeguet¹ en la provincia de Salta, con un 30% de predios positivos y prevalencias regionales del noroeste norte y sur de entre el 12 y 19%.

En el país se ha descrito la presencia de casos clínicos con serología positiva, como el de Río Negro 2001, en el oeste pampeano en caprinos en el 2006 por Bedotti³, continuando por un caso de adenomatosis pulmonar ovina en Jujuy, que posteriormente fuera confirmada la presencia serológica del virus de CAEV asociado (Marín y col., 2012⁴), junto al brote de 2015 en San Luis, (Rossanigo 2016⁵) y seguida de la reciente denuncia en Salta -que se encuentra en las fases terminales del aislamiento viral-. Toda esta información evidencia, más allá de los hallazgos serológicos conocidos, que la enfermedad está presente en el país como también en Salta y Jujuy y que sería necesario el desarrollo de capacidades locales para el diagnóstico de la enfermedad como base para la planificación de cualquier estrategia de erradicación o de control a nivel de predio.

BIBLIOGRAFIA

1. Trezeguet, M.A.; R; Suarez, M.; Barral, L.; Periolo, F.; Maidana, C., E.; Farías, P. C.; Rodríguez, C., E.; Debenedetti, R., T.; Marcos, A.; y Cosentino, B. Situación epidemiológica de maedi-visna y artritis encefalitis caprina en la Argentina. 2013. *sns* vol. 1, N.º 1, ISSN 2314-2901.
2. Dodero, A.M.; Suarez, V.H.; Bertoni, E.A.; Rossetto, C.; Martinez, G.M.; Romera, S.A.; Quiroga Roger, J.; Brihuega, V.; Raia, N.A.; Viñabal, A.E.; Salatin A.O. "Enfermedades en hatos caprinos de valles áridos y chaco semiárido". 2015. IX Seminario de la Fundación "Charles Louis Davis". Salta, Argentina.
3. Bedotti, D.O.; Fort, M.C.; Giménez, H.; Langhoff, A.; Garré, J.; Hertsommer, O. Descripción de un caso de Artritis-Encefalitis caprina en la provincia de La Pampa, Argentina. 2007. V Congreso de Especialistas en pequeños rumiantes y camélidos sudamericanos, Mendoza, Argentina. Pp: 163-165.
4. Marín R.E.; Setti W.; Carrillo B.J. y Wooton, S. Descripción de un caso de Adenomatosis Pulmonar Ovina en la Puna de Jujuy, Argentina. 2012 *Vet. Arg.* – Vol. XXIX – N° 289
5. Boletín nº 3 PNSA. Marzo de 2016. Ediciones INTA

Agradecimientos

Se agradece la colaboración en la toma de muestras y acceso a los predios a la Ing. Agr. Marcela Martínez, a los Med. Vet. Cristina Rossetto y Juan D. Nievas y a los Señores José Alfaro y Emilio Alfaro.

V8- DESARROLLO DE UN ENSAYO DE CUANTIFICACIÓN ABSOLUTA POR PCR EN TIEMPO REAL PARA DETECTAR INFECCIÓN POR VIRUS DE LEUCOSIS BOVINA.

L. Martínez Cuesta, M.V. Nieto Farias, P. Lendez, G. Dolcini y C. Ceriani.

Laboratorio de Virología, Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN, CONICET-CICPBA), Facultad de Cs. Veterinarias, UNCPBA, Pasaje Arroyo Seco s/n, (7000) Tandil, Argentina. cceriani@vet.unicen.edu.ar

Introducción: El virus de la leucosis bovina (BLV) es un retrovirus ampliamente distribuido en los tambos de nuestro país (1). El virus infecta principalmente linfocitos B y la transmisión ocurre por contacto con células infectadas. La mayoría de los animales infectados permanecen asintomáticos, pero en algunos casos la enfermedad progresa a linfocitosis persistente o linfosarcoma (2). Los animales infectados pueden desarrollar alta o baja carga proviral. Los animales de alta carga proviral serían más eficaces en la transmisión del virus por la gran cantidad de linfocitos infectados circulantes en sangre que poseen. Las pérdidas económicas producto de la infección son muy importantes, de ahí la relevancia del problema y la necesidad de identificar a los animales con alta carga proviral para intentar disminuir la tasa de transmisión (3).

Objetivo: Desarrollar un ensayo de PCR cuantitativa en tiempo real (qPCR) utilizando SYBR Green para detectar la presencia del BLV en linfocitos de sangre periférica, amplificando una región altamente conservada del gen *pol*.

Materiales y métodos: Se realizó una cuantificación absoluta del gen *pol* en animales infectados con serología positiva y PCR convencional negativa para la infección con BLV. Para elaborar la curva de calibración se utilizaron como estándar diluciones seriadas del plásmido pBLV913 en agua. El plásmido pBLV913, que contiene una copia completa del virus (gentileza de la Dra G. Buehring, University of California, Berkeley), se usó para transformar bacterias TOPO10 y luego se purificó usando un kit comercial (Axygen, Biosciences). La concentración de ADN plasmídico se midió en el equipo NanoDrop 2000 Spectrophotometer (Thermo Scientific). Se construyó una curva estándar con diluciones del plásmido conteniendo de 10^5 a 10 copias del virus. Cada punto de la curva se amplificó por triplicado y la eficiencia de amplificación se determinó mediante un modelo de regresión lineal de acuerdo a la ecuación $E = 10[-1/\text{slope}]$ (4). La curva estándar se validó repitiendo al menos 3 veces la amplificación.

RESULTADOS:

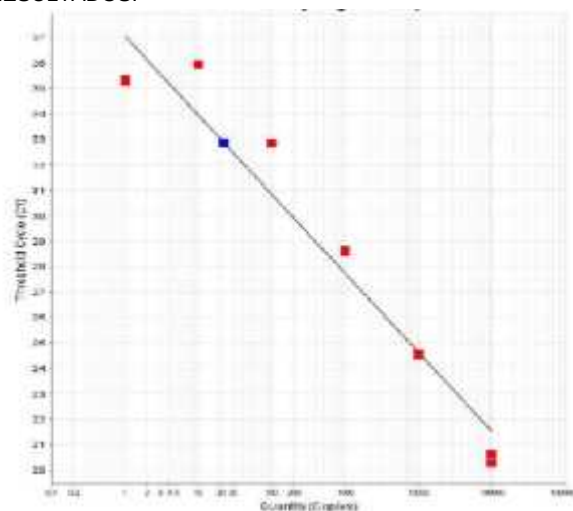


Figura 1: Curva estándar Ct (*Threshold cycle*) vs número de copias. $y = -3,104 x + 37,043$. $R^2: 0,945$.

Se analizaron veinte animales con serología positiva/PCR convencional negativa para BLV. El ensayo de cuantificación absoluta por qPCR permitió detectar un bajo número de copias del virus (>100 copias). El punto de corte se determinó de forma arbitraria. Se consideran de baja carga proviral aquellos animales que tengan menos de 100 copias del virus cada 30 ng de ADN de células mononucleares de sangre periférica.

Conclusiones: Los animales con serología positiva y PCR convencional negativa se consideran de baja carga proviral. Con este ensayo de alta especificidad y sensibilidad se pueden discriminar a los animales infectados en alta y baja carga proviral. La metodología desarrollada permite detectar hasta 10 copias del virus por reacción.

BIBLIOGRAFIA:

1. Giraudo J. *et al.* Bovine Enzootic Leukosis, Sitio Argentino de Producción Animal 2010.
2. Gillet N. *et al.* Mechanisms of leukemogenesis induced by bovine leukemia virus: prospects for novel anti-retroviral therapies in human. *Retrovirology* 2007 4:18.
3. Bartlett P.C., *et al.* Options for the control of bovine leukemia virus in dairy cattle. *J Am Vet Med Assoc* 2014 244:914-922.
4. Pfaffl MW. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Reserch* 2001; 29(9).

V9- COMPORTAMIENTO DE CEPAS ARGENTINAS DEL HERPESVIRUS BOVINO 4 (BoHV-4) GENETICAMENTE DIVERGENTES EN UNA INFECCIÓN EXPERIMENTAL DE TERNEROS

P. Morán¹, S. Pérez^{1,2}, A. Odeón³, A. Verna^{2,3}.

1 Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA, Tandil, Buenos Aires. 2 Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Buenos Aires. 3 Laboratorio de Virología, Departamento de Producción Animal, INTA, Balcarce, Buenos Aires. pmoran@vet.unicen.edu.ar

Introducción:

El Herpesvirus bovino 4 (BoHV-4), miembro de la familia *Herpesviridae*, subfamilia *Gammaherpesvirinae*, género *Rhadinovirus*, ha sido aislado en diferentes partes del mundo en bovinos con una amplia variedad de casos clínicos, y de animales aparentemente sanos. Si bien no se lo ha establecido como agente causal de una entidad patológica específica se lo asocia mayormente con infecciones del tracto reproductivo de los bovinos, particularmente durante el período pos parto. En nuestro país este agente viral era prácticamente desconocido hasta su detección e identificación en el año 2007, por el Servicio de Diagnóstico Veterinario del INTA Balcarce, a partir de muestras provenientes de vacas que abortaron. Hasta la fecha se han obtenido más de 50 aislamientos conjuntamente con la aparición de variantes virales que difieren filogenéticamente de las cepas prototipos americana (DN599) y europea (Movar). Estas cepas fueron caracterizadas y clasificadas en tres grupos filogenéticos diferentes, designados como genotipos 1 (europeo), 2 (americano) y 3 (nuevo grupo genotípico). En trabajos realizados *in vitro*, se observaron diferencias significativas en la dinámica de replicación entre algunas cepas. El objetivo de este trabajo fue determinar si cepas argentinas de BoHV-4, genéticamente divergentes, presentan distinto comportamiento *in vivo*.

Materiales y Métodos:

Se inocularon 4 terneros, intranasalmente, con 20 ml (10 ml en cada orificio nasal), de las cepas de BoHV-4 de los diferentes grupos filogenéticos, seleccionadas en función de su actividad biológica *in vitro*. Las cepas fueron previamente amplificadas en cultivos celulares (Madin-Darby bovine kidney, MDBK) con un título de 10^6 TCID₅₀/ml. Los animales se inocularon de acuerdo a la siguiente distribución: ternero 1 (t1) cepa 09/508 (tipo europeo), ternero 2 (t2) cepa 08/330 (tipo americano), ternero 3 (t3) cepa 07/435 (variante correspondiente al nuevo grupo) y ternero 4 (t4) control sin infectar. Se recolectaron muestras de leucocitos de sangre periférica, secreciones (nasales y oculares) y de suero a los días 0, 7, 14 y 21 pos infección (pi) y muestras de órganos para aislamiento y detección de genoma viral luego de la eutanasia al día 21 pi. Las muestras para aislamiento se inocularon sobre monocapa de MDBK, realizándose 4 pasajes cada 72 h. Para la detección del genoma se adaptó una nested PCR para el ORF 25 (gen que codifica una de las principales proteínas de la cápside) (Fabián y Egyed 2004). La determinación de anticuerpos seroneutralizantes se realizó mediante la técnica de seroneutralización viral (SNV), desafiando los sueros de los tres animales con las cepas homólogas y heterólogas.

Resultados:

No se observaron manifestaciones clínicas en ninguno de los animales. Las cepas 08/330 y 07/435 se aislaron de los hisopados nasales a los días 7 y 14 pi, y la cepa 09/508 solamente al día 14 pi. Sólo la cepa 08/330 se aisló en hisopado ocular al día 7 pi. en el cuarto pasaje. El aislamiento viral a partir de las muestras de órganos y leucocitos de los animales infectados fue negativo. El genoma viral fue detectado en bazo, médula, nódulo trigeminal, tráquea y cerebro del t1 (cepa 09/508), en tráquea, bazo, riñón, linfonódulo retrofaringeo y cerebro del t2

(cepa 08/330) y en linfonódulo pulmonar y cerebro del t3 (cepa 07/435). También se detectó el genoma en leucocitos de los animales infectados con las cepas 08/330 (días 14 y 21 pi) y 09/508 (día 21 pi). No se detectó la presencia del genoma viral y no se aisló BoHV-4 en las muestras del ternero control. Se observó seroconversión solamente en el ternero 1 (contra la cepa homóloga), aunque con bajos títulos de anticuerpos (Ac). Todos los animales, incluido el control, presentaron títulos de Ac. contra la cepa 08/330. No se detectaron Ac. contra BoHV-1.

Discusión:

En el presente trabajo se demostró que las cepas de BoHV4 utilizadas fueron capaces de replicar en un modelo *in vivo*. Es importante destacar la detección del genoma de las tres cepas en el sistema nervioso central. Si bien el aislamiento viral en cultivos celulares es el método gold standard, en algunas circunstancias se ve dificultado por la variabilidad en la velocidad de replicación y en la presentación de efecto citopático (ECP) de las diferentes cepas virales. Dada la complejidad del aislamiento viral se requiere la utilización de técnicas de alta sensibilidad, como nested PCR, para la detección de la presencia del virus.

La técnica de seroneutralización viral (SNV) es uno de los aspectos controvertidos en el diagnóstico del BoHV-4. La respuesta inmune humoral no resulta eficiente en los bovinos infectados; esta situación parece estar asociada a una deficiente exposición de los epítopos involucrados en el mecanismo de neutralización viral por anticuerpos, debido a la presencia de una barrera de glicanos. Para el diagnóstico serológico, el método más utilizado es el test de ELISA. Considerando que la técnica de seroneutralización puede dar como resultado la detección de acción neutralizante inespecífica para algunas cepas, como se observó con la cepa 08/330, sería aconsejable utilizar otras técnicas serológicas alternativas para el diagnóstico de laboratorio como herramienta para relevamiento en los rodeos.

La amplia variedad de cepas existentes en todo el mundo revela la capacidad de variabilidad que posee este virus y su complejidad tanto biológica como epidemiológica, lo cual constituye un factor para considerar al momento del diagnóstico.

Bibliografía

- Egyed L. y cols. Studies of *in vivo* distribution of bovine herpesvirus type 4 in the natural host. J Clin Microbiol. 1996;34:1091-5.
- Fabián K, Egyed L. Detection of bovine gammaherpesviruses by a nested duplex PCR. J Virol Meth. 2004;115:93-8.
- Machiels B. y cols. Antibody evasion by Gammaherpesvirus O-glycan shield. PLoS Pathog. 2011; doi:10.1371/journal.ppat.1002387.
- Verna A, y cols.. Genomic analysis of bovine herpesvirus type 4 (BoHV-4) from Argentina: High genetic variability and novel phylogenetic groups. Vet Microbiol. 2012; doi:org/10.1016/j.vetmic.2012.04.039.
- Verna A. y cols. Comparative study on the *in vitro* replication and genomic variability of Argentinean field isolates of bovine herpesvirus type 4 (BoHV-4). Virus Genes. 2016; doi: 10.1007/s11262-016-1312-3

V10- CONTROL DE CONTAMINANTES VIRALES ADVENTICIOS EN PRODUCTOS BIOLÓGICOS. LABOR REALIZADA DURANTE 2015.

Alvarez I. ¹⁻², Caviglia L.¹, Politzki R.¹, Porta N.¹⁻², Gutiérrez G.¹⁻², Jaworski J.P.¹⁻², Tomassini M.V.¹, Zabal O. ¹, Trono K.¹⁻².

¹Instituto de Virología, CICVYA, INTA. ²CONICET. alvarez.irene@inta.gob.ar

Introducción

El laboratorio de Virus Adventicios del Instituto de Virología del INTA ofrece desde el año 2003 servicios especializados de detección de virus adventicios contaminantes en productos biofarmacéuticos o bioterapéuticos de uso humano o veterinario y de evaluación de sus procesos de manufactura mediante el análisis directo, y/o la demostración de la capacidad de estos procesos para inactivar o remover agentes virales (*Clearance viral*). Es un servicio único en Latinoamérica, que se ofrece desde un organismo estatal como el INTA. El servicio está dirigido principalmente a instituciones y empresas biofarmacéuticas que elaboran sus productos/sub-productos a partir de materias primas o ingredientes de origen animal, que necesitan validar la calidad de sus productos y/o de sus procesos de manufactura para su comercialización nacional e internacional. El propósito de este trabajo es mostrar la labor realizada durante el año 2015 en el laboratorio de Virus Adventicios del INTA en el control de contaminantes virales en productos biológicos y en procesos de manufactura.

Materiales y Métodos

En los ensayos de control de Virus Adventicios, cada muestra a controlar fue inoculada en al menos dos líneas celulares diferentes dependiendo del origen y destino de la muestra, fue observada diariamente durante 21 días (con pasajes cada 7 días) para detectar efecto citopático en el cultivo, y finalmente los cultivos fueron revelados por hemaglutinación para detectar virus hemaglutinantes y por inmunofluorescencia directa para detectar específicamente virus porcinos y/o bovinos según corresponda. Cuando la normativa lo exige, las muestras fueron inoculadas también en ratones lactantes por diferentes vías y en huevos embrionados. Se analizaron muestras: suero fetal bovino, hormona gonadotrofina coriónica equina, bancos de células de diversos orígenes, stocks virales, dispositivos dermoepidémicos, suero de leche, solución de inmunoglobulina humana, suero de animales, entre otras muestras. En los ensayos de Validación, una etapa del proceso productivo a evaluar fue realizada a escala laboratorio previa contaminación del material inicial (definido por la empresa solicitante) con altas dosis infecciosas de distintos virus modelos. Se tomaron muestras a diferentes tiempos para evaluar la cinética de la inactivación viral y se determinó el factor de reducción viral por titulación viral sobre las muestras tomadas en cada proceso. El diseño del ensayo de validación fue realizado de acuerdo a la normativa nacional e internacional vigente, de acuerdo al producto y/o proceso a evaluar y de acuerdo a requerimientos

específicos de cada elaborador. Una vez finalizados todos los ensayos propuestos se elaboró un informe completo en español e inglés con todos los resultados obtenidos. Algunos productos biológicos, así como las poblaciones animales donantes de los mismos, fueron controlados por ensayos de serología y/o de detección de ácidos nucleicos contra los principales agentes infecciosos según la especie de origen. Las principales pruebas utilizadas fueron IDGA para detección de anticuerpos contra el Virus de la anemia infecciosa equina, RT-PCR y seroneutralización para la detección del Virus de la diarrea viral bovina, ELISA para la detección de anticuerpos contra el Virus de la leucosis bovina, PCR para la detección de *Mycoplasma sp.*

Resultados

Durante 2015 se analizaron 186 protocolos (PVA según codificación interna). El 20% del total de los PVAs analizados corresponden a ensayos de control epidemiológico y control de contaminación por *Mycoplasma sp.* En estos PVAs se analizan entre 3 y 3.000 muestras en cada uno. El 80% de los PVAs corresponden a ensayos de control de adventicios sobre distintos productos, subproductos o ingredientes de origen biológico. Se realizaron 4 ensayos de validación solicitados por 4 empresas biofarmacéuticas nacionales.

Conclusiones

El Servicio de Control de Virus Adventicios, está dirigido principalmente a instituciones y empresas biofarmacéuticas que elaboran sus productos a partir de materias primas o ingredientes de origen animal, que necesitan validar la calidad de sus productos y/o de sus procesos de manufactura para su comercialización nacional e internacional. Es un servicio técnico especializado que ofrece el INTA a demanda, que da valor agregado a la industria biofarmacéutica nacional y regional. Las actividades del Laboratorio de Virus Adventicios están enmarcadas dentro de los proyectos estratégicos de la Cartera de INTA. Los fondos generados por el servicio son utilizados para el funcionamiento operativo del laboratorio. Una fracción de los mismos es utilizada para la financiación de las líneas de investigación del grupo de trabajo.

Bibliografía: USA Code Of Federal Regulations. Title 9, Volume 1. Revised January 2002. Animals and Animal Products. Chapter I, Animal And Plant Health Inspection Service, Department Of Agriculture Part 113. "Requirements for Cell Lines Used For The Production Of Biologics" and "Requirements for ingredients of animal origin used for production of biologics", 113.46, 113.47, 113.51, 113.52.

V11- EVIDENCIA PRELIMINAR DEL VIRUS DE LA ARTRITIS-ENCEFALITIS CAPRINA (CAEV) Y EL VIRUS MAEDI-VISNA (MVV) EN CABRAS DE SAN LUIS

I Álvarez ^{1,2}, A Raia ¹, N Porta^{1,2}, F Delgado ³, A Carosio ⁴, K Trono ^{1,2} C Rossanigo⁴

¹Laboratorio de Virus Adventicios, Instituto de Virología. CICVyA INTA. ²CONICET. ³ Laboratorio del Campo. Gob. de San Luis.

⁴Laboratorio de Sanidad Animal, EEA San Luis INTA (Villa Mercedes). alvarez.irene@inta.gob.ar

Introducción

Los Virus de la artritis-encefalitis caprina (Caprine Arthritis-Encephalitis Virus- CAEV) y Maedi-visna (MVV) son miembros de la familia de los Retrovirus, e infectan ovejas y cabras en forma indistinta. La mayoría de los animales infectados son asintomáticos, solo un pequeño porcentaje desarrollan un síndrome clínico caracterizado por una enfermedad inflamatoria multisistémica que afecta pulmones, sistema nervioso central, articulaciones y glándula mamarias CAEV y MVV pueden ser aislados de tejidos afectados o de fluidos mediante co-cultivo con células susceptibles por detección de efecto citopático (ECP) característico y posterior confirmación por inmunomarcaje y/o biología molecular. El objetivo de este trabajo fue realizar el aislamiento del virus CAEV/MVV mediante cultivo celular a partir de muestras de cabras de la provincia de San Luis con sintomatología clínica compatible con Artritis-encefalitis caprina.

Materiales y métodos.

Se realizaron ensayos de inoculación de cultivos celulares con el objeto de detectar CAEV/MVV a partir de diferentes muestras de dos cabras (nro.29 y nro.88) con sintomatología compatible de Artritis-encefalitis caprina y serología positiva, pertenecientes a un rodeo de la provincia de San Luis. Para esto, monocapas subconfluentes de células de la línea GSM (membrana sinovial de cabra) fueron inoculadas con líquido sinovial, linfocitos de sangre periférica y homogenatos de membrana sinovial, glándula mamaria, linfonódulo mamario y pulmón de ambas cabras. Se observó diariamente la presencia de efecto citopático (ECP) característico durante 10 días. Los cultivos fueron pasados en forma ciega. Aquellos cultivos donde se observó la presencia de efecto citopático fueron sometidas a un ensayo de PCR puesto a punto en nuestro laboratorio (según Olech y col. 2012), con el objeto de detectar la presencia de fragmentos genéticos específicos virales. Todas las muestras originales inoculadas en células GSM fueron evaluadas antes de ser inoculadas por el mismo ensayo de PCR para detectar la presencia de material genético de CAEV/MVV.

Resultados

Cuando se realizó el co-cultivo de células GSM con los diferentes tejidos de ambas cabras, se observó un ECP compatible con infección por CAEV/MVV en el segundo pasaje del líquido sinovial y en menor medida de las muestras de PBMC. Esta observación fue concordante con la detección de RNA específico de CAEV/MVV en los lisados de células de los co-cultivos de las muestras antes mencionadas. Además, se detectó RNA viral en los homogenatos crudos de membrana sinovial y glándula mamaria de la cabra 29. Se detectó DNA proviral solo en el homogenato de membrana sinovial de la cabra 29.

Al momento de la escritura de este resumen, se están realizando nuevos pasajes ciegos de cada uno de los co-cultivos de células GSM con los diferentes tejidos, así como amplificando los pocillos donde se detectó ECP. Los cultivos deben ser pasados varias veces antes de ser declarados negativos.

Conclusiones

Los resultados preliminares obtenidos hasta el momento, aportan información preliminar sobre el la detección de CAEV/Maedi Visna en Argentina. Muchos más ensayos son necesarios para confirmar el hallazgo, y obtener evidencia de identificación y caracterización viral específica. Para esto, las muestras positivas en el ensayo de PCR están siendo secuenciadas para establecer el genotipo de la cepa en aislamiento, y de esta forma comenzar a juntar evidencias de cepas que circulan en nuestro país. Este trabajo, es un primer paso para comenzar a conocer la situación de la enfermedad producida por CAEV/MVV en Argentina y para poner a punto métodos diagnósticos que permitan establecer medidas rápidas de control de la infección para evitar su diseminación.

Nota: Por ser la Artritis-encefalitis caprina una enfermedad de denuncia obligatoria, la misma fue comunicada al SENASA local (San Luis). Las muestras utilizadas fueron obtenidas en la necropsia realizada por SENASA en conjunto con EEA de San Luis.

Bibliografía.

OIE, Organización Mundial de Sanidad Animal. Artritis/encefalitis caprina y Maedi-Visna. Manual of Diagnostic Test and Vaccines for Terrestrial Animals (mammals, birds and bees). 2008b. Capítulo 2.7.3/4. -
Leroux, C.; Cruz, J.C.M.; Mornex, J.F. SRLVs: A genetic continuum of lentiviral species in sheep and goats with cumulative evidence of cross species transmission. Curr. HIV Res. 2010, 8, 94–100.

V12- PRESENTACIÓN CLÍNICA DE UN CASO DE ARTRITIS-ENCEFALITIS CAPRINA (CAE) y TOXOPLASMOSIS EN SAN LUIS (ARGENTINA)

CE Rossanigo ¹, G Delgado ², A Raia ³, F Delgado ⁴, A Carosio¹, I Alvarez³, J Rey ⁵, M Rodriguez ⁵ y W Page ¹

¹ Laboratorio de Sanidad Animal. EEA INTA San Luis. (Villa Mercedes). ² Laboratorio del Campo. Gob. de San Luis. ³ Laboratorio de Virus Adventicios. Instituto de Virología. CICVyA INTA Castelar ⁴ Área de Patología. Instituto de Patobiología. CICVyA INTA Castelar. ⁵ Ministerio de Medio Ambiente, Campo y Producción. Gob. de San Luis . E-mail: rossanigo.carlos@inta.gov.ar

Introducción

Los lentivirus de pequeños rumiantes (small ruminant lentiviruses – SRLVs) son miembros de la familia de los Retrovirus y comprenden al Virus Maedi-visna (VMV) y al Virus de la artritis-encefalitis caprina (Caprine Arthritis-Encephalitis - Virus- CAEV) que infectan a ovejas y cabras. La mayoría de los animales infectados por estos virus son asintomáticos, pero un porcentaje desarrollan un síndrome clínico caracterizado por una enfermedad inflamatoria multisistémica que afecta pulmones, sistema nervioso central, articulaciones y glándula mamaria. Los animales asintomáticos y los que presentan enfermedad son fuente de virus y pueden transmitir la enfermedad a animales sanos. En la CAEV las principales presentaciones son las de una encefalomielitis progresiva que afecta a cabritos de 2 a 6 meses y el de la artritis crónica que se observa principalmente en animales mayores de un año, aunque se han descrito otros tres síndromes que cursan con mastitis acompañada de hipogalactia o agalactia, con neumonía intersticial progresiva crónica y con pérdida de peso. Esta enfermedad se trasmite en forma vertical a través de la leche o el calostro de cabras infectadas, u horizontal, a través de secreciones vaginales, sangre, saliva o vías respiratorias. En nuestro país la enfermedad es de denuncia obligatoria y se encuentran en la lista de enfermedades del Código Sanitario para los Animales Terrestres de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE). En Argentina se ha reconocido la existencia de animales serológicamente positivos en majadas de varias provincias, aunque hasta el presente no se ha podido aislar el virus. Esta comunicación tiene el propósito de aportar las observaciones realizadas en un caso clínico con artritis crónica compatible con CAEV en cabras de un establecimiento caprino del centro de la provincia de San Luis.

Materiales y métodos

El caso se presentó en agosto del 2015 en una majada de un pequeño productor de la localidad de Donovan (San Luis) compuesta por 28 cabras y un macho Saanen que habían sido comprados el año anterior. El productor realizó la consulta por que sus cabras presentaban abortos en la parición de otoño-invierno, problemas de artritis en la articulación carpo-metacarpiana que dificultaban el desplazamiento y el antecedente que a su mujer le habían detectado brucelosis en el hospital provincial de San Luis atribuida al consumo de leche de las cabras enfermas. En visitas previas se extrajo sangre de la vena yugular en dos sangrados más de 15 de diferencia, para el chequeo de enfermedades abortivas: brucelosis, usando la técnica de BPA como prueba tamiz y toxoplasmosis por inmunofluorescencia indirecta (IFI). Posteriormente en una visita clínica se registraron los antecedentes del caso, se revisaron todos los animales y frente a la sospecha de infección por virus de la Artritis-Encefalitis, se extrajo sangre entera con anticoagulante a 9 cabras que fueron procesadas por ELISA comercial para la detección de anticuerpos contra CAEV/VMV utilizando reactivos de un Kit de Idexx Laboratories. Se sacrificaron dos de los animales más afectados y se tomaron muestras refrigeradas y en formol de diferentes órganos (encéfalo, pulmón, glándulas mamarias, articulaciones con artritis) y fluidos corporales (leche y sangre) con la intención del aislamiento viral futuro y de estudios histopatológicos. Específicamente en encéfalo se realizaron estudios en secciones de 3 µm de espesor de corteza frontal, parietal y occipital, tálamo, núcleos basales, mesencéfalo, puente, óbex y cerebelo.

Resultados

En la anamnesis realizada se pudo determinar que los caprinos Saanen comprados provenían de un tambo-quesería de la región que al cerrar su actividad productiva puso en venta las hembras y los machos a pequeños productores de la zona, terminando muchos de ellos con la misma problemática de las artritis crónicas. Según el relato del productor los abortos eran de fetos grandes con un moco marrón entre la placenta o a veces se producía el nacimiento de cabritos débiles que morían en las primeras 48 horas de vida. La anamnesis reveló también que el diagnóstico de brucelosis de la mujer databa de 10 años atrás con un agravamiento actual de la sintomatología independiente a la problemática de la majada. En el examen clínico se detectaron 3 cabras (11%) con ubres indurativas e hipogalactia y 8 animales (29%) con signología clínica de artritis del carpo con aumento de la temperatura local y dolor articular. Todos los animales sangrados fueron negativos al BPA y se detectó una importante seroconversión en los títulos serológicos superiores a 1/400 para toxoplasmosis por IFI en 4 cabras y el macho. La detección de anticuerpos contra CAEV por ELISA arrojó el 100 % de las muestras positivas. El diagnóstico morfológico del estudio histopatológico de los dos encéfalos reveló edema cerebral y una meningoencefalitis no supurativa muy leve en uno de ellos

Discusión y conclusión

La detección de anticuerpos frente a CAEV confirma el diagnóstico clínico y presuntivo de la artritis crónica cursada con mastitis fibrosa y hipogalactia. Este diagnóstico clínico-serológico será reforzado con los estudios de detección y aislamiento viral que se están llevando a cabo en el Laboratorio de Virus Adventicios del Instituto de Virología del CICVyA INTA Castelar. Por tratarse de una enfermedad de denuncia obligatoria la misma fue comunicada al SENASA local. El resultado de los títulos a toxoplasmosis iguales o superiores a 1/400 con importantes seroconversiones hacen considerar que el *Toxoplasma gondii* pudo ser el agente etiológico de los abortos ocurridos en el otoño-invierno. Los cambios observados en los estudios histopatológicos son compatibles con un trastorno hemodinámico sistémico, posiblemente asociado con agonía o con el método de eutanasia empleado.

Bibliografía

1. Bedotti, D.O.; Fort, M. C.; Giménez, H.; Langhoff, A.; Garré, J. y Hertsommer, O. (2007). Descripción de un caso de artritis-encefalitis caprina en la provincia de La pampa, Argentina. Vº Congreso de Especialistas en Pequeños Rumiantes y Camélidos Sudamericanos, Mendoza, Argentina.
2. Robles, C. A.; Layana, J. A.; Cabrera, R. F.; Raffo, F. y Cutlip, R. (2003). Estudio sexológico retrospectivo de Maedi (Neumonía Progresiva) en Ovinos y Artritis Encefalitis en Caprinos de Patagonia. Argentina. Revista de Medicina Veterinaria. Vol.84 (3):96-99.
3. Rossanigo, C. E.; Venturini, L.; Venturini, M. C.; Bacigalupe, D. y Unzaga, J. M. (2002). Toxoplasmosis caprina en majadas de San Luis. *Memorias de resúmenes XIVa Reunión (AAVLD)*. Villa Gral Belgrano (Córdoba). Resumen Parasitología PAR-08.
4. Trezeguet, M. A.; Debenedetti, R. T.; Suarez, M. F.; Barral, L. E. y Ramos, M. (2010). Detección de la artritis- encefalitis caprina, en majadas generales, en Argentina. *Veterinaria Argentina*, 27(270). Disponible en: <http://www.veterinariargentina.com/revista/2010/10/13888/>
5. Trezeguet, M. A.; Suárez, M. F.; Barral, L. E.; Periolo, F.; Celia Esther Maidana, C. E.; Parías, P. C.; Carlos Eduardo Rodríguez, C. E.; Debenedetti, R. T.; Marcos, A. y Cosentino, B. (2013). Situación epidemiológica de maedi-visna y artritis encefalitis caprina en la Argentina. *Sns (SENASA)*, vol. 1, N.º 1: 1-11.

V13- BROTES DE ECTIMA CONTAGIOSO EN MAJADAS OVINAS Y CAPRINAS DEL CENTRO-OESTE ARGENTINO: IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE VIRUS ORF

CE Rossanigo ¹, A Peralta ², A Carosio ¹, J Toselli ³ y J Ashworth ⁴

¹Laboratorio de Sanidad Animal. EEA INTA. San Luis. CC 17, (5730), Villa Mercedes (San Luis), Arg. ² Investigadora del CONICET. Instituto de Biotecnología. CICVyA, INTA Castelar. ³ Actividad privada. ⁴ AER INTA Concarán. E-mail: rossanigo.carlos@inta.gov.ar

Introducción

El ectima contagioso también se conoce como boquera, epizootia, boca costrosa y dermatitis pustular contagiosa. Tiene un comportamiento epidémico, produciendo brotes anuales siendo más frecuente en animales jóvenes, aunque bajo ciertas circunstancias los animales adultos también pueden verse afectados. Es una enfermedad viral que afecta a ovejas, cabras, alpacas, camellos y otros rumiantes salvajes. Los humanos también pueden verse afectados a través del contacto con animales infectados y se han registrado casos ocasionales en perros que comen animales muertos infectados. La enfermedad es causada por un virus epiteliotrópico (Parapoxvirus), conocido como virus ORF, que se encuentra en lesiones cutáneas y costras de animales infectados y se cree que ingresa mediante contacto directo con cortes o abrasiones en la piel a través de secreciones y por objetos contaminados. El virus es muy resistente en el ambiente pudiendo permanecer en la lana y en el cuero durante aproximadamente un mes. Los signos y lesiones se detectan entre 3 a 7 días luego de la exposición al virus y por lo general, la herida sana por sí sola en 2 a 6 semanas sin dejar cicatrices. Los primeros signos son pequeñas protuberancias elevadas (pápulas), llagas y ampollas en los labios, morro, orejas y/o párpados de los animales y en algunos casos las lesiones aparecen en la nariz, alrededor de los ojos, patas, vulva, ubre y axila. En la boca de los lactantes puede impedir el amamantamiento por las lesiones dolorosas y causar pérdida de peso, y además puede infectar los pezones y la ubre de la madre, dando lugar a la mastitis. En casos raros, las lesiones se encuentran en la lengua, encías, techo de la boca, el esófago y en ocasiones con lesiones en el rumen. El presente resumen describe dos brotes que afectaron a majadas ovina y caprina en establecimientos del centro-oeste del país

Materiales y métodos

Los brotes se presentaron en majadas sin antecedentes de haber aplicado la vacuna viva atenuada frente al Ectima contagioso. El brote ovino se presentó en julio en un establecimiento sito en Huinca Renancó (Córdoba) en una majada compuesta por 28 ovejas cruce Corriedale x Pampinta y 16 corderos de menos de 60 días. En las ovejas adultas las lesiones se presentaban en boca, ubre y pezones, mientras que los corderos presentaban lesiones vesiculares y costrosas de diferente magnitud en la boca, labio y nariz. En ambas categorías no se observaron lesiones en rodete coronario de las pezuñas, oreja, parpados, conjuntiva ocular y órganos genitales. El brote en el ganado caprino se presentó en agosto una majada que se encontraba en época de servicio en de la localidad de Concarán (San Luis), donde la enfermedad se observó en dos animales adultos (un macho y una cabra) de un total de 50 cabras adultas y en dos cabritos muertos por inanición de un total de 20. En todos los casos se tomaron y conservaron en -70 °C costras de las lesiones típicas en labio para la confirmación del diagnóstico clínico siguiendo las instrucciones del kit QIAamp DNA, para la extracción de ADN. En primer lugar se determinó la integridad del ADN obtenido (mediante electroforesis en gel de agarosa) y luego se procedió a realizar la PCR diagnóstica basada en la amplificación del gen ORF045 con la finalidad de confirmar el diagnóstico clínico, usando una dilución 1/2 (1/5) y 1/10 de los ADN de las muestras. El tamaño esperado para el producto de PCR fue de 392pb y el marcador de peso molecular utilizado fue 100pb.

Resultados

A la revisión clínica del brote ovino se constató 8 ovejas (28,6%) afectadas con lesiones costrosas en ubre-pezones en el 75% de los casos y en boca-morro en el 25 % de las enfermas. El 100% de los 7 corderos afectados (43,7%) presentaban lesiones costrosas en morro y labio. Las dolorosas lesiones costrosas en los corderos y sus madres dificultaban el amamantamiento. Todas las madres se recuperaron del brote mientras que la letalidad de los corderos fue del 14,3% (1/7). Las lesiones costrosas del brote en la majada de cabras se limitaban a boca y labio tan to en los adultos como en dos cabritos muertos. La PCR diagnóstica para Ectima realizada sobre el ADN extraído de las costras recolectadas amplificó un producto del tamaño esperado. Todas las muestras de ambos brotes fueron positivas para la presencia del virus ORF, agente causal del Ectima contagioso (figura 1).

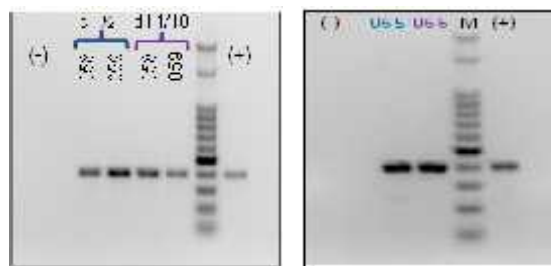


Figura 1: PCR diagnóstica para Ectima ovino y caprino

Discusión y conclusión

A pesar que en ambos brotes no se pudo comprobar el ingreso de la enfermedad a través de animales portadores del virus, queda claro el mayor porcentaje de animales afectados en el brote ovino comparado con el caprino, demostrando la mayor sensibilidad de estos animales como lo reportaron otros autores. La época de presentación de ambos brotes (invierno) concuerda también con los reportes realizados por otros autores en el sentido que los meses fríos son más predisponentes para la aparición de la enfermedad. Mediante la prueba de PCR se confirmó molecularmente la presencia de ADN del mismo virus ORF en las muestras de costras de ambas especies, confirmando la hipótesis de que el mismo virus afecta a estas dos especies.

Bibliografía

1. Fenner, F.; Gibbs, E.; Murphy, F.; Rott, R.; Studdert, M.; White, D. (1993) Veterinary Virology. Ed. By Academic Press, 2nd edition, USA. 666 pág.
2. Kottaridi, C.; Kyriaki Nomikou, K.; Teodori, L.; Savini, G.; Lelli, R.; Markoulatos, P.; Mangana O. (2006). Phylogenetic correlation of Greek and Italian orf virus isolates based on VIR gene. Veterinary Microbiology, 116: 310–316.
3. Peralta, A.; Calamante, G.; Robles, C.; König, G. (2013). Identificación molecular de virus ORF en lesiones vesiculares de cuatro ovinos de la Provincia de Río Negro. Resúmenes Reunión Científica Anual de la Sociedad Argentina de Virología. (Buenos Aires).
4. Robles, C.; Peralta, A.; Martínez, A.; Calamante, G.; König, G.; Álvarez, L. (2014). Brote atípico de ectima contagioso en ovinos merino de Patagonia. Resúmenes Virología XX Reunión de la AAVLD (Tucumán).

V14- PUESTA A PUNTO DE UN ENSAYO DE PCR PARA LA DETECCIÓN DE LENTIVIRUS DE PEQUEÑOS RUMINANTES: CAEV Y MVV.

A Raia ¹, C Rossanigo ², K Trono ¹⁻³, Alvarez I. ¹⁻³

¹Instituto de Virología, CICVYA, INTA. ² Laboratorio de Sanidad Animal, EEA San Luis INTA ³ CONICET. alvarez.irene@inta.gob.ar

Introducción

Los lentivirus de pequeños rumiantes (small ruminant lentiviruses – SRLVs) son miembros de la familia de los Retrovirus y comprenden al Virus Maedi-visna (VMV) y al Virus de la arteritis-encefalitis caprina (Caprine Arthritis-Encephalitis Virus- CAEV) que infectan a ovejas y cabras. La mayoría de los animales infectados son asintomáticos, solo un porcentaje desarrollan un síndrome clínico caracterizados por una enfermedad inflamatoria multisistémica que afecta pulmones, sistema nervioso central, articulaciones y glándulas mamarias. A pesar de una fuerte respuesta inmune, el virus no puede ser eliminado y el animal permanece como portador por el resto de su vida, y puede transmitir la enfermedad a animales sanos. MVV y CAEV pueden ser aislados de explantos de tejidos o de fluidos mediante co-cultivo con células permisivas por detección de efecto citopático. Es una técnica muy laboriosa y requiere de un laboratorio con gran equipamiento. El mejor método diagnóstico es la serología, ya que la detección de anticuerpos es indicativo que el animal contrajo la enfermedad. Los ensayos de PCR son muy útiles como métodos complementarios a los serológicos, especialmente durante el período de ventana o ante la presencia de anticuerpos calostrales. Las PCR permiten además confirmar los hallazgos de cultivo celular y realizar estudios de información epidemiológica molecular. Las muestras elegidas para la realización de ensayos de PCR son las células mononucleares de sangre periférica (PBMC), leche/calostro, líquido sinovial. Con el objetivo de disponer de una herramienta de diagnóstico rápida y complementaria para la detección de CAEV/MVV y se estandarizó la técnica de PCR según fue descrita por Olech y col. (2012) con algunas modificaciones, y se evaluó su performance al aplicarse para el diagnóstico de MVV y CAEV en muestras de campo procedentes de casos naturales y de aislamientos en cultivo celular.

Materiales y métodos

Se utilizó la cepa K1514 prototipo de MVV amplificada en células GSM (membrana sinovial de cabra) para la puesta a punto del ensayo de PCR, como fuente de virus (RNA) y de provirus (DNA proviral). Se extrajo DNA y RNA de las distintas muestras utilizando kits comerciales. A partir del DNA extraído se detectó el provirus de CAEV/MVV mediante una reacción de PCR anidada del gen *gag* de CAEV/MVV según Olech y col (2012). Para la detección de ARN viral se realizó una reacción de transcripción reversa (RT) a partir de ARN extraído y tratado con endonucleasa RQ1 RNase free DNase para degradar el DNA. La reacción de RT se llevó a cabo con M-MLV Reverse Transcriptase y *random* hexámeros. Una vez obtenido el ADN copia (ADNc) se amplificó por la misma reacción de PCR. Se estableció la temperatura de *annealing* de la reacción de PCR mediante un gradiente de temperatura. Se determinó el límite de detección de cada una de las reacciones utilizando diluciones de un lisado de células GSM infectadas con el virus K1514. Se analizaron distintos tipos de muestras con la PCR puesta a punto.

A partir de DNA extraído de lisado de células GSM infectadas con MVV cepa K1514 se estableció el ciclado de la reacción de PCR donde se observaban la menor cantidad de bandas inespecíficas.

Resultados

Fue posible detectar CAEV/MVV en muestras de sangre entera, homogenatos de tejidos y en lisados celulares de co-cultivos de células GSM con líquido sinovial, PBMC y homogenatos de tejidos. El límite de detección observado para la reacción de PCR a partir de RNA fue mayor que a partir de DNA cuando se analizaron diluciones de ambos ácidos nucleicos. Esta observación se repitió cuando se contaminaron experimentalmente diferentes matrices como sangre entera, leche, homogenato de tejidos con diluciones del lisado celular de GSM infectado con MVV-K1514. La reacción de PCR fue específica para CAEV/MVV ya que ácidos nucleicos de diferentes patógenos de ovinos y caprinos resultaron negativos cuando fueron analizados con este ensayo de PCR.

Conclusiones

De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente trabajo, se pudo poner a punto un ensayo de PCR para la detección de CAEV/MVV, con resultados confiables. Esto permite contar con una herramienta de diagnóstico rápida, complementaria a la serología, para la detección de animales infectados con CAEV/MVV, así como para la detección de los agentes en los ensayos de aislamiento a partir de cultivo de células.

Bibliografía.

Leroux, C.; Cruz, J.C.M.; Mornex, J.F. SRLVs: A genetic continuum of lentiviral species in sheep and goats with cumulative evidence of cross species transmission. *Curr. HIV Res.* 2010, 8, 94–100.

Olech, M., Rachid, A., Croisé B., Kuzmak J., Valas S. Genetic and antigenic characterization of small ruminant lentiviruses circulating in Poland. *Virus Res.* 2012 Feb;163(2):528-36. doi: 10.1016/j.virusres.2011.11.019

Trezeguet M. A., Marcos Fabián Suárez, Leonardo, Enrique Barral, Florencia Periolo, Celia Esther Maidana, Patricio Carlos Farías, Carlos Eduardo Rodríguez, Rosa Teresa, Debenedetti, Andrea Marcos y Bernardo Cosentino. Informe del Senasa vol. 1, N.º 1, junio-agosto 2013

OIE, Organización Mundial de Sanidad Animal. Artritis/encefalitis caprina y Maedi-Visna. Manual of Diagnostic Test and Vaccines for Terrestrial Animals (mammals, birds and bees). 2008b. Capítulo 2.7.3/4. -

V15- DISPOSITIVO PORTATIL BASADO EN UN SISTEMA DE PCR ISOTÉRMICA AISLADA PARA LA DETECCIÓN RÁPIDA DE HERPES VIRUS EQUINO 3.

M.A. Vissani¹, M.S. Tordoya¹, Y.L. Tsai², Y.H. Shen², P.Y. Alison Lee², H.F.G. Chang², H.T.T. Wang², M. Barrandeguy^{1,3}.

¹Instituto de Virología, CICVyA, INTA Castelar, Buenos Aires; ²GeneReach USA, Lexington, USA; ³Escuela de Veterinaria, Universidad del Salvador, Pilar, Buenos Aires; vissani.aldana@inta.gob.ar

Introducción

El Exantema Coital Equino (ECE), causado por Herpes virus equino 3 (HVE-3), es una enfermedad venérea, altamente contagiosa y caracterizada por la formación de pápulas, vesículas, pústulas y úlceras en los genitales externos de yeguas y padrillos. El diagnóstico se realiza principalmente de forma clínica, ya que las lesiones son muy características. Sin embargo, debido a que existen animales latentemente infectados en los que el virus se reactiva y re excreta en forma subclínica y no predecible, la identificación de estos animales resulta crítica para prevenir la transmisión de la infección ^(1,2). El diagnóstico de laboratorio mediante el aislamiento del virus en células EDerm o la detección del genoma viral por PCR convencional o en tiempo real (qPCR) son alternativas no apropiadas para el control de ECE en la práctica. La detección rápida del virus al pie del animal contribuiría a disminuir las probabilidades de contagio al padrillo o entre yeguas, particularmente durante el servicio natural, único método reproductivo en la raza sangre pura de carrera, y en centros de inseminación artificial y transferencia embrionaria en otras razas. El dispositivo portátil POCKIT™ COMBO (GeneReach USA), que incluye un sistema de extracción automatizado (taco™ mini) y un equipo de PCR isotérmica aislada portátil (iiPCR), ha sido descrito recientemente para la detección rápida, simple y sensible de otros patógenos equinos ^(2, 3, 4). El objetivo de este trabajo fue evaluar el desempeño de la iiPCR para la detección de HVE-3.

Materiales y Métodos

Para evaluar la sensibilidad analítica de la iiPCR, la misma fue comparada con la técnica de qPCR, utilizando diluciones seriadas de HVE-3 (E-9283-07 C3A). Para evaluar la especificidad de la iiPCR se incluyeron virus de referencia y aislamientos de campo de HVE-1, 2, 4 y virus de arteritis equina (VAE), así como también cepas de campo de *Salmonella enterica* sv. abortus equi, y *Streptococcus equi*. Por último, se realizó la extracción de DNA a partir de 85 muestras de hisopados genitales-perineales (HGP) mediante el sistema automatizado de extracción taco™ mini siguiendo las recomendaciones del fabricante. Los ácidos nucleicos extraídos se analizaron por medio de las dos metodologías, iiPCR y qPCR. La concordancia entre las mismas se calculó a través del test Kappa.

Resultados

Se estableció el límite de detección de la iiPCR (95%) con un punto final de detección similar al de la qPCR. Ninguno de los aislamientos y cepas de referencia de HVE-1, 2, 4, VAE, *Salmonella enterica* sv. abortus equi, y *Streptococcus equi*. incluídos en el estudio fueron detectados por la iiPCR de HVE-3. De las 85 muestras analizadas, 45 resultaron positivas por las dos metodologías y una negativa por qPCR y positiva por iiPCR (Tabla 1).

		HVE-3 qPCR		
		Positivas	Negativas	Total
HVE-3 iiPCR	Positivas	45	1	46
	Negativas	0	39	39
	Total	45	40	85

Concordancia: 98.82%; IC (95%): 95.03% - 100%

Especificidad = 93.34%; Sensibilidad = 100%

Tabla 1: Concordancia entre las técnicas de iiPCR y qPCR para la detección de HVE-3 en muestras de hisopados genitales-perineales equinos.

A partir de estos datos, se estableció un nivel de concordancia del 98,82% (κ : 0,98).

Discusión

A partir del sistema de iiPCR mediante el dispositivo portátil POCKIT™ COMBO (GeneReach USA) es posible detectar al pie del animal y en el transcurso de 2 hs (25 minutos para la extracción de ácidos nucleicos y 58 minutos para la iiPCR) la presencia de HVE-3 en muestras de HGP en animales sin lesiones clínicas de ECE. Por esta razón, el dispositivo portátil POCKIT™ COMBO (GeneReach USA), es una herramienta muy valiosa para el diagnóstico y control de ECE en centros de monta, inseminación artificial y transferencia embrionaria.

Bibliografía

- 1- Equine coital exanthema and its potential economic implications for the equine industry. Barrandeguy M, Thiry E. Vet J. 2012 Jan; 191(1):35-40.
- 2- Equine CoitalExanthema. IN Infectious Diseases of Livestock, Allen GP and NW Umphenour. (Ed.) JAW Coetzer and RC Tustin. Oxford Press (Cape Town), Chapter 78, pp 860-867, 2004.
- 3-Rapid detection of equine influenza virus H3N8 subtype by insulated isothermal RT-PCR (iiRT-PCR) assay using the POCKIT Nucleic Acid Analyzer. Balasuriya UB, Lee PY, Tiwari A, Skillman A, Nam B, Chambers TM, Tsai YL, Ma LJ, Yang PC, Chang HF, and Wang HT. J Virol Methods 2014;207:66-72.
- 4-Type A influenza virus detection from horses by real-time RT-PCR and insulated RT-iiPCR. Balasuriya UB. Methods in Molecular Biology 2014; 161:393-402.
- 5- Development and evaluation of a reverse transcription-insulated isothermal polymerase chain reaction (RT-iiPCR) assay for detection of equine arteritis virus in equine semen and tissue samples using the POCKIT™ system. Carossino M, Lee PY, Nam B, Skillman A, Shuck KM, Timoney PJ, Tsai YL, Ma LJ, Chang HF, Wang HT, Balasuriya UBR. Journal of Virological Methods 2016, 234, 7-15.

V16- DETECCIÓN DEL VIRUS DE ANEMIA INFECCIOSA EQUINA UTILIZANDO UNA PCR ANIDADA A PARTIR DE MUESTRAS DE SANGRE DE EQUINOS DEL SUR DE CÓRDOBA

P. Tamiozzo¹, M. Izurieta²

1-Laboratorio Arrel. Jorge newbery 268, Las Higueras. Córdoba. Argentina. E-mail: laboratorio.arrel@gmail.com

2-Centro de Transferencia de Embriones Equinos "BioEquus". R.N. No. 7, km 541, General Levalle, Cba. E-mail: magdaizu1@hotmail.com

Introducción

La Anemia Infecciosa Equina (AIE) es una enfermedad de los equinos que se caracteriza por la presentación de signos clínicos agudos y/o crónicos recurrentes como depresión, fiebre y trombocitopenia (Issel & Coggins, 1979). Los caballos infectados, incluidos los asintomáticos, son portadores y fuente de infección durante toda su vida, por lo que su detección temprana es un punto crítico en el control de la AIE. El éxito del diagnóstico de la enfermedad mediante el uso de pruebas serológicas depende del tiempo que tarda el equino en desarrollar una respuesta inmune, que usualmente es de 45 días post-infección, pero es muy variable (Issel & Coggins, 1979; Issel & Cook, 1993; Hammond et al., 1997) y es comúnmente llamado el "periodo de ventana" y de la sensibilidad y especificidad de las técnicas diagnósticas. La prueba de referencia para el diagnóstico de la infección es la inmunodifusión en gel de agar (IDGA) o test de Coggins. Otra técnica serológica comúnmente utilizada, es el Enzimoimmuno ensayo o ELISA (por sus siglas en inglés). A menudo, para la confirmación de un resultado positivo a la IDGA se utiliza alguno de los ELISA disponibles en el mercado. Sin embargo, las pruebas de ELISA pueden arrojar resultados falsos positivos y cualquier resultado positivo a ELISA debe confirmarse con la IDGA. Esto genera cierta controversia a la hora de determinar el estado de infección de un individuo y en la práctica implica una pérdida importante de tiempo antes de poder tomar alguna decisión sobre el mismo para controlar la enfermedad y limitar la diseminación del virus. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es una prueba directa y es capaz de detectar una infección de manera muy temprana y puede detectar reactores positivos incluso antes de que el caballo haya desarrollado una respuesta inmune, en aquellos animales subclínicos y en potrillos en los cuales las pruebas serológicas podrían ser mal interpretadas debido a la presencia de anticuerpos maternos (Nagarajan & Simmard, 2001).

Debido a que los laboratorios no ofrecen comúnmente este tipo de diagnóstico molecular para la detección de AIE y que se tuvo acceso a algunos equinos sospechosos de tener la enfermedad en el sur de la provincia de Córdoba, el objetivo del presente trabajo es informar el uso de una PCR anidada para la detección del ADN proviral del virus de AIE.

Materiales y métodos

Entre setiembre de 2015 y marzo de 2016 fueron remitidas al laboratorio muestras de sangre con anticoagulante EDTA de 13 caballos de la zona de General Levalle (Provincia de Córdoba) cuyo rango de edades iba de los 3 a los 20 años. Doce de ellos tenían resultados de IDGA negativos y uno de ellos era IDGA positivo. Todos pertenecían a o habían estado en contacto con el grupo de equinos en el que se había desarrollado uno de los focos y en el que habían sido detectados 3 casos positivos (IDGA) que fueron enviados a faena.

El ADN de las muestras de sangre fue extraído con kit Puri prep S (Inbiohighway) de acuerdo a las instrucciones del fabricante y conservado a -20°C hasta su procesamiento. Para evaluar la integridad del ADN extraído se realizó la amplificación del gen de la B-actina de acuerdo a las condiciones anteriormente informadas (Nagarajan 2001). Para la detección del ADN proviral se utilizó la PCR anidada previamente descrita (Nagarajan 2001) con las mismas condiciones y utilizando los mismos cebadores informados por los autores. Brevemente, la primera reacción utilizando los cebadores P1-P2 y las segundas reacciones utilizando los cebadores P3-P5 y P4-P5 respectivamente. Los amplímeros fueron sembrados en gel de agarosa al 1,5% teñido con SYBR Green I (Invitrogen) y corridos a 70 v por 45 min.

Resultados

Dos de los equinos resultaron positivos (uno de ellos había sido IDGA negativo y el otro había sido IDGA positivo) mostrando un amplímero más nítido al combinar los cebadores P3-P5. En todas las muestras hubo amplificación del gen de la B-actina.

Discusión

Los resultados obtenidos muestran la utilidad de la técnica en dos escenarios diferentes. En el primero, del animal que fue positivo a la PCR anidada y que había sido positivo a la IDGA, podría decirse que la PCR fue confirmatoria, ganando tiempo en el diagnóstico y así en las medidas de control de la infección, en lugar de, en caso que el propietario lo hubiese requerido, confirmar por ELISA y después volver a confirmar por IDGA. En el segundo escenario, el caballo que había sido IDGA negativo pero fue positivo a la PCR anidada pudo deberse o bien a una infección muy reciente por lo cual el animal no había seroconvertido aún, o bien a que se encontraba en el "periodo de ventana". La identificación de este animal hubiese permitido aislarlo o sacrificarlo para evitar la diseminación del virus, pero lamentablemente este equino no pudo ser seguido en el tiempo.

Debido a que cada vez se presentan más casos de AIE en zonas no endémicas, la PCR anidada representa una alternativa rápida de detección en animales portadores seronegativos o en estadios tempranos de infección. Debería poder utilizarse como prueba oficial en caso de brotes, como lo indica la OIE, para evitar la diseminación de la enfermedad.

Bibliografía

- Issel & Coggins, 1979. J Am Vet Assoc. 174: 727-733.
- Issel & Cook, 1993. J Vet Diagn Invest. 5: 137-141.
- Hammond et al., 1997. J Virol. 71: 3840-3852.
- Nagarajan & Simmard, 2001. J Virological meth. 94: 97-109.

V 17- PRUEBA DE INFECTIVIDAD DEL VIRUS DE LA LEUCOSIS BOVINA EN CALOSTRO TERMOPROCESADO EN EL MODELO ANIMAL CORDERO

AM Dodero¹, *, GM Martínez², G Gutierrez,³

¹Area de Sanidad Animal INTA-IIACS-CIAP ²INTA EEA Salta ³INTA CICVyA

*E-mail: dodero.ana@inta.gob.ar

INTRODUCCIÓN

En la cuenca lechera del Valle de Lerma, la leucosis bovina tiene una prevalencia superior al 85%. Existe una elevada mortalidad de vacas y terneros, por diversas causas, con lo que la sanidad del futuro rodeo puede ser mejorada actuando sobre la etapa inicial, brindando a los terneros un calostro sanitizado^{1,2}. Este trabajo propone la evaluación en modelo cordero, de la infectividad del virus de la leucosis bovina (BLV) utilizando una técnica de pasteurización de calostro para la prevención del contagio de leucosis bovina por vía galactógena.

MATERIALES Y MÉTODOS

A 13 vacas secas de tercer y cuarto parto se les efectuó la prueba de Elisa P24³ y la técnica de PCR en tiempo real para la determinación de carga proviral (CP) de BLV⁴. De las que resultaron de alta carga, se realizó el seguimiento de tres hasta su parto y se colectó el calostro de una de ellas. Se tomó una muestra para la determinación de la CP y 4 litros del fluido fresco, fueron sometidos a pasteurización tipo batch 59°C, 35 minutos (min), y se reservaron 4 litros en refrigeración a 4°C. Las dos fracciones, pasteurizada y no pasteurizada, se centrifugaron a 2000 rpm por 10 minutos, se les retiró la interfase de grasa, se descartó el sobrenadante y se resuspendió el contenido celular con PBS estéril, repitiendo la acción hasta conseguir dos concentrados celulares limpios -trabajando siempre en flujo laminar-. Cada una de las fracciones se subdividió en 4 partes iguales de 25ml con PBS estéril, y con ello se inoculó al azar, por vía subcutánea a 8 corderos de 4 meses de edad. Se realizó un seguimiento serológico de los animales los días 0, 30, 45, 60 y 90 post inoculación (dpi).

RESULTADOS

El análisis de las muestras de sangre de vacas secas por Elisa y PCR se presentan en la tabla 1.

Tabla 1: Caravana, resultado serológico Elisa P24, % de reactividad, CP expresada en copias de provirus/ µg de ADN.

Caravana	Resultado serológico	% de Reactivida	Carga proviral ¹
658	+	196,4	323950,4
754	+	212,4	213883,8
860	+	166,0	803216,8
905	+	202,8	184605
920	+	120,8	ND ²
926	+	223,6	133350,2
927	+	184,8	286848,8
948	+	196,4	ND ²
1020	+	163,6	7153,6
1046	+	216,8	432478,8
1130	+	208,8	458,4
1207	+	157,2	Coagulada
2233	+	228,0	Coagulada

¹ Copias BLV/µg ADN

² ND= No detectada

Todas las hembras evaluadas fueron serológicamente positivas a BLV con una reactividad alta, superior al 100%, que se asocia con alta CP en la mayoría de los casos⁴. La prueba de PCR reveló que un 63,63% poseía alta carga (mayor a 10.000 copias/µg de ADN), 18,18% baja carga, 18,18% no sobrepasaban el umbral de detección, mientras que dos muestras no pudieron ser procesadas.

En la Tabla 2, se muestra el análisis de la CP de pellets resuspendidos de calostros por PCR en tiempo real.

Tabla 2: Muestra, detector fluorescente utilizado, ciclo umbral promedio para la muestra, copias de provirus por µg de ADN genómico.

Muestra	Detector	CU ³	Copias BLV/µg ADN
926 calostro	Sybr green	35,67	23,8
Calostro positivo	Sybr green	31,45	298,3

³ CU= Ciclo umbral

La carga de la hembra dadora de calostro fue de 133350,2 copias de BLV/µg de ADN y la del calostro fue de 23,8 copias de BLV/µg de ADN.

Con respecto a los grupos de corderos, ambos permanecieron negativos durante todo el seguimiento serológico.

DISCUSIÓN

Siendo la carga proviral del calostro utilizado baja, como es normal en el fluido, pero aun así dentro de lo detectable^{4,5}. Los corderos inoculados con el concentrado pasteurizado al igual que los que recibieron el mismo sin tratar, no tuvieron cambios en su estado serológico, permaneciendo negativos durante los 90 días del ensayo, en contraposición con trabajos previos que utilizaron contaminación de leche con líneas celulares infectadas (Lomonaco, comunicación personal). Esto pudiera deberse a la presencia de inmunoglobulinas (Ig) remanentes en el calostro que pudieran neutralizar el bajo nivel de expresión vírica presente en los inóculos⁴ o inclusive, se podría pensar que existe un mínimo de carga vírica para el desarrollo de la infección que no ha sido aún determinado y que en este ensayo no se alcanzó dicho umbral. Debido a que estos resultados no quedarían validados con la infección de los corderos inoculados vía subcutánea, con calostro sin termoprocasar de una CP de 23,8 copias BLV/µg ADN, es que se plantea la necesidad de realizar nuevas pruebas con diferentes CPs, ante la presencia y ausencia de IgG activas -total y específicas para BLV- antes y después de la pasteurización.

Los resultados no son concluyentes a cerca de la efectividad de la pasteurización a 59°C 35 min en calostro para la prevención del contagio de leucosis en el modelo cordero.

BIBLIOGRAFIA

- Suarez, V.H., Micheloud, J.F., Martínez, G.M., Bertoni, E.A. y Neumann, R.D. (2015) Presencia de enfermedades y problemas sanitarios en los tambos del Valle de Lerma, Salta. Revista Argentina de Producción Animal Supl. 1: 63-82
- Elizondo-Salazar J.A. (2007) Alimentación y manejo del calostro en el ganado de leche. Agronomía Mesoamericana 18(2): 271-281
- Gutierrez, G., Alvarez, I., Fondevila, N., Politzki, R., Lomonaco, M., Rodríguez, S., Dos Santos, J.M., Trono, K. (2009) Detection of bovine leukemia virus specific antibodies using recombinant p24-ELISA. Veterinary Microbiology 137 (2009) 224-234
- Gutierrez, G., Lomonaco, M., Alvarez, I., Fernandez, F., Trono, K. (2015) Characterization of colostrum from dams of BLV endemic dairy herds. Veterinary Microbiology 177: 366-369
- Kanno, T., Ishihara, R., Hatama, S., Oue, Y., Edamatsu, H., Konno, Y., Tachibana, S., Murakami, K. (2014) Effect of freezing treatment on colostrum to prevent the transmission of bovine leukemia virus. J. Vet. Med. Sci. 76, 255-257.

Agradecimientos

Al grupo de Agroalimentos de la EEA Salta, a Emiliano Bertoni, Antonio Salatin y Sergio Cortez de Sanidad Animal IIACS-CIAP, Jose y Emilio Alfaro por la gran dedicación al cuidado de los animales, a Ramón Miraval y a Julián González Adam que sin su colaboración este ensayo no hubiera sido posible.

V18- EVALUACIÓN DE UNA ESTRATEGIA DE CONTROL DEL VIRUS DE LA DIARREA VIRAL BOVINA EN UN ESTABLECIMIENTO DE CRÍA*

E. González Altamiranda^{1,2}, M. Goizueta¹, M. Spetter^{1,3}, E. Louge Uriarte¹, A. Verna^{1,2}, M. Leunda¹, S. Pereyra¹, A. Castellano¹, E. Spath¹, A. Odeón¹. galtamiranda.erika@inta.gob.ar

1: EEA INTA Balcarce, 2: CONICET, 3: FONCyT.

Introducción

El virus de la Diarrea Viral Bovina (vDVB) causa importantes pérdidas económicas en la ganadería bovina. Una situación relevante es la existencia de bovinos persistentemente infectados (PI) producto de la exposición congénita al virus; estos animales son el principal reservorio y fuente de diseminación del virus [1]. En consecuencia, la eliminación de estos animales PI resulta esencial para el control del vDVB. Como en otras enfermedades, la DVB tiene la desventaja que las pérdidas no son fácilmente cuantificables, por lo que existe falta de conocimiento de su real implicancia en la producción. El objetivo del presente trabajo fue valorizar económicamente la implementación de una Estrategia Sanitaria de Control del vDVB en un rodeo de cría del sudeste bonaerense.

Materiales y métodos

En un establecimiento de cría bovina de 652 ha, ubicado en el partido de San Cayetano (Bs. As.) y compuesto por 528 vientres, el Servicio de Diagnóstico Veterinario Especializado (SDVE) del INTA Balcarce diagnosticó la mortandad de 29 terneros de un año (18 hembras y 11 machos) por enfermedad de las mucosas. En el establecimiento hubo también 15 abortos y mortalidad neonatal de 30 terneros. En consulta con el SDVE, se decidió realizar el saneamiento del rodeo mediante la detección y eliminación de animales PI. Para ello se sangró la totalidad del rodeo y se determinó la presencia del vDVB en suero por una técnica adaptada de *nested* RT-PCR [2]. Posteriormente, se realizó el análisis económico de la situación mediante la cuantificación de las pérdidas económicas efectivas y debidas a la DVB y la valorización de la implementación de la estrategia sanitaria aplicada en un programa de 5 años.

Resultados y discusión

Los resultados se abordaron desde tres ejes principales: 1) diagnóstico de la DVB, 2) cuantificación de las pérdidas económicas efectivas y debidas al vDVB y 3) valorización de la implementación de la estrategia sanitaria de control.

El número final de animales diagnosticados PI fueron 3/528 (0,56%). Adicionalmente, si se considera que los 29 muertos por enfermedad de las mucosas también eran PI, el número total de PI en el establecimiento hubiese sido del 5,75%.

Tabla 1: Estimación de los ingresos no percibidos por abortos y pérdidas perinatales en 2015

Incremento de costos por reposición de vientres abortados	
Kg. por vaca	400
\$ por Kg de valores 2015 (precio establecimiento)	\$ 14.-
Venta vientre	\$ 5.400.-
Compra vientre (precio establecimiento)	\$ 7.500.-
Diferencia reposición:	\$ 2.100.-
Cantidad vacas abortadas 50% de 45	\$ 23.-
Total: pérdidas por reposición de vientre abortado	\$ 47.250.-
Ingresos no percibidos por menor producción de terneros	
Kg. por ternero al destete	160
\$ por Kg a valores 2015 (precio establecimiento)	\$ 28.-
Ingreso no percibido por ternero al destete	\$ 4.364.-
Cantidad vacas abortadas 50% de 45	\$ 23.-
Total: ingresos no percibidos por ternero al destete	\$ 98.208.-

En cuanto a los abortos y mortalidad perinatal y neonatal, también podrían ser atribuibles, en parte, al vDVB, ya que el rodeo se encontraba libre de brucelosis y otras enfermedades reproductivas y venéreas.

Las pérdidas económicas imputables al vDVB, con valores actualizados a 2015, fueron de \$ 369.465.- Se consideraron los egresos por vacunación (\$10.302.-) y los ingresos no percibidos por trastornos reproductivos, los cuales totalizaron 45 casos. Asumiendo que la mayoría de estas pérdidas se debieron efectivamente a la presencia del vDVB, sólo se imputó el 50% de los casos (\$ 145.458.-; ver detalle en Tabla 1) y por mortandad de 29 animales de recría de 200 kg de peso vivo medio (\$ 152.200.-). Además, se incluyeron las erogaciones incurridas por el asesoramiento del SDVE, tanto en la etapa de reconocimiento del problema (\$ 3.080.-) como en la aplicación de la propuesta sanitaria (\$ 42.125.-) y el costo de reposición de los animales PI (\$ 6.300.-).

Se estimó un valor aproximado de la implementación de la Estrategia Sanitaria de Control del vDVB y en función de ello se calcularon egresos/ingresos para un lapso de 5 años (Tabla 2).

Se tomó como momento de valuación el año 2015 (Año 0), dado que la detección de animales PI y la propuesta de control tuvo lugar en este periodo. En 2015 los flujos fueron sólo egreso y a los efectos del presente análisis, los 5 años subsiguientes se plantearon como flujos constantes, en donde los egresos son por vacunación y vigilancia. Los ingresos son aquellos que en el Año 0 fueron considerados como egresos (trastornos reproductivos y muertes), ya que una vez "saneado" el establecimiento no se incurrirá en esas pérdidas, pudiendo argumentarse que se obtendrán esos "kg de carne adicionales".

Tabla 2: Valorización de la Estrategia Sanitaria de control del vDVB en un establecimiento de cría

	Año 0	Año 1	Año 2	Año 3	Año 4	Año 5
Egresos	\$ -10.302	\$ -10.302	\$ -10.302	\$ -10.302	\$ -10.302	\$ -10.302
	\$ -51.505	\$ -500	\$ -500	\$ -500	\$ -500	\$ -500
	\$ -307.960	\$ 0	\$ 0	\$ 0	\$ 0	\$ 0
Total egresos	\$ -369.767	\$ -10.802	\$ -10.802	\$ -10.802	\$ -10.802	\$ -10.802
Ingresos	\$ 0	\$ 307.960	\$ 307.960	\$ 153.980	\$ 153.980	\$ 153.980
Total ingresos	\$ 0	\$ 307.960	\$ 153.980	\$ 153.980	\$ 153.980	\$ 153.980
Ingresos menos egresos	\$ -369.767	\$ 297.158	\$ 297.158	\$ 143.178	\$ 143.178	\$ 143.178
Valor de la implementación de la estrategia al 15%	\$ 207.467					

El ejemplo presentado permitió validar el servicio propuesto y su potencial utilización en amplia escala. Esta valoración fue positiva implicando que no sólo se recuperaron los egresos del año previo sino que además hubo un valor positivo adicional favorable al establecimiento.

Bibliografía

- [1] Nettleton PF and Entrican G. Ruminant pestiviruses. Br Vet J., 151(6):615-42. 1995.
- [2] Goubea V, Santos N, Timenetsky M, Do C. VP4 typing of bovine and porcine group A rotavirus by PCR. J Clin Microbiol 32: 1333 – 37. 1994.

* "Premio Mención" Biogénesis-Bagó 2015, Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria.

INDICE DE TRABAJOS Y AUTORES

BACTERIOLOGIA

B1 - DESCRIPCIÓN DE UN BROTE DE BRUCELOSIS CAPRINA, A PARTIR DE UN BROTE EN HUMANOS

Delgado, MG; Arregui, M; Navarro, M; Spina, MJ; Rey, JP; Garro, C; Rodríguez, M; Samartino, L mariagabrieladc@speedy.com.ar

B2- TUBERCULOSIS PORCINA: CORRELACIÓN ENTRE TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO Y MOLECULAR A PARTIR DE DECOMISOS DE FRIGORÍFICOS.

Pietronave, J; Barandiaran, S; Falzoni, E; Zumárraga, M; Bonzo, E; Campos, B; Martínez Vivot, M jpietronave@gmail.com

B3- SUSCEPTIBILIDAD A ANTIBIÓTICOS DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS AISLADOS DE MASTITIS BOVINA EN ESTABLECIMIENTOS DE LA CUENCA CENTRAL DE ARGENTINA

Neder, V.E; Araujo L., Gianre VR, Calvinho, LF - calvinho.luis@inta.gob.ar

B4- VALOR DIAGNÓSTICO DEL ANTÍGENO TERMO RESISTENTE PARA DETERMINAR ANTICUERPOS ANTI-LEPTOSPIRA EN SUERO DE VACAS ABORTADAS

Zimmer, PA; Biotti, GM; Draghi, MG; Brihuega, BF - zimmer.patricia@inta.gob.ar.

B5- SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE CEPAS DE SALMONELLA SPP. AISLADAS DE TERNEROS DE TAMBOS DE URUGUAY

M.L. Casaux, C.O. Schild, R.D. Caffarena, F. Giannitti, M. Fraga- lcasaux@inia.org.uy

B6- CARACTERIZACIÓN DEL MATERIAL CASEOSO EN LESIONES DE LAC Y SU CORRELACIÓN CON EL AISLAMIENTO DE CORYNEBACTERIUM PSEUDOTUBERCULOSIS EN OVINOS DE SANTA CRUZ

R. Marcellino y J. Santana - marcellino.romanella@inta.gob.ar ; santana.jorge@inta.gob.ar

B7- DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE CORYNEBACTERIUM PSEUDOTUBERCULOSIS A PARTIR DE MATERIAL BIOLÓGICO DE OVINOS DE LA PATAGONIA

R. Marcellino, A. Mignaqui y J. Pappalardo - marcellino.romanella@inta.gob.ar

B8- AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE Staphylococcus pseudintermedius EN PIODERMIS CANINAS: IMPORTANCIA DE SU RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANO

N. Fauret , F. Vinocur , P. Manzuc J. Gardinetti, G. Giacoboni

natalifauret@hotmail.com

B9- INMUNOREACTIVIDAD DE UN EXTRACTO PROTEICO DE LEPTOSPIRA SPP VS PROTEINAS RECOMBINANTES LIPL32 y LIGB25

M. Martinez; S. Grune Loffler; C. Hartleben; M. Dominguez; G. Romero; C. Auteri; B. Brihuega martinez.mara@inta.gob.ar

B10- CARACTERIZACION DE UN EXTRACTO PROTEICO DE LEPTOSPIRA SPP PARA SU APLICACIÓN EN EL DIAGNOSTICO DE LA LEPTOSPIROSIS BOVINA

M. Martinez; S. Grune Loffler; G. Romero; C. Auteri; L. Samartino; B. Brihuela.
martinez.mara@inta.gob.ar

B11- INOCULACIÓN EXPERIMENTAL DE BRUCELLA SUIIS BIOTIPO 1 EN CHAETOPHRACTUS VILLOSUS

M. S. Kin, M. Fort, E. B. Casanave- kinsusana@yahoo.com.ar

B12- DIAGNOSTICO BACTERIOLOGICO DE TUBERCULOSIS BOVINA EN BOVINOS REACTORES A LA PRUEBA INTRADERMICA.

S. Garbaccio, F Delgado, M. Zumarraga, P. Huertas, C. Garro. garbaccio.sergio@inta.gob.ar

B13- UN CASO DE EHRlichiosis EN UN PERRO DE LA PROVINCIA DE SAN LUIS

Aubert S. R., Rossanigo C. E., Crosa P., Serrano D., De Salvo M. N. y Cicuttin, G. L.
rossanigo.carlos@inta.gob.ar

B14- EFECTO DE FACTORES PREDISPONENTES SOBRE LA TRANSMISION Y PERSISTENCIA DE E. coli O157:H7 EN BOVINOS

L. C. Rhades ; F. J. Babinec; A. Pordomingo; A. Cataldi ; A. M. Larzabal ; V. N. Baldone ; N. Amigo L. Urquiza ; L. Gelid ; P. J. Delicia ; M. C. Fort rhades.luis@inta.gob.ar

B15- PATOGENIA Y EPIDEMIOLOGIA DE UN RODEO BOVINO INFECTADO NATURALMENTE CAMPYLOBACTER FETUS VENEREALIS INTERMEDIO

VN Baldone, MC Fort, HA Romero, LF Urquiza, L. van der Graaf – van Bloois, J Wagenaar, PA Chacana y HR Terzolo -baldone.valeria@inta.gob.ar

B16- RESISTENCIA ANTIBIÓTICA EN AISLAMIENTOS DE STAPHYLOCOCCUS SP. PROVENIENTES DE CANINOS Y FELINOS DURANTE 2014-2016

G Retamar, N Guida, M Mesplet - mmesplet@fvvet.uba.ar

B17- REPRODUCCION EXPERIMENTAL DE LA ENTERITIS POR CLOSTRIDIUM PERFRINGENS TIPO E.

L.M. Redondo ; E. A. Redondo ; J.M. Diaz-Carrasco; P. Geoghegan ; A. Cangelosi ; M.E. Fernandez-Miyakawa - redondo. leandro@inta.gob.ar

B18- Identificación y caracterización de aislamientos de Pasteurella multocida obtenidos a partir de muestras pulmonares en bovinos, cerdos y aves

N. Moiso, P. Tamiozzo, B. Pelliza - nicolasmoiso@gmail.com.

B19- OPTIMIZACIÓN DE LOS PROCEDIMIENTOS PARA LA DETECCIÓN DE LAWSONIA INTRACELLULARIS EN EXPLANTES INTESTINALES PORCINOS MEDIANTE PCR

PÉREZ GAUDIO DS; MARTINEZ G; FERNÁNDEZ PAGGI MB; RICCIO MB; DECUNDO J; DIEGUEZ S; TAPIA MO; SORACI AL denisa@vet.unicen.edu.ar

B20- DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE CLOSTRIDIUM PERFRINGENS EN CORDEROS MERINO DE LA PATAGONIA

AC Mignaqui; RB Marcellino; JS Pappalardo; CA Robles mignaqui.anaclara@inta.gob.ar

B21- HEMOGLOBINURIA BACILAR BOVINA: DESCRIPCIÓN DE 3 FOCOS EN PATAGONIA

Martinez, A; Alberghini, JP; Centelles, I; Palazuelos, A; Cabrera, J; Robles, C

B22- EVALUACIÓN DE PARÁMETROS DE PATOGENICIDAD DE CAMPYLOBACTER FETUS EN CULTIVOS CELULARES: INFLUENCIA DE LA SUBESPECIE BACTERIANA Y LA MUESTRA DE ORIGEN

L. Chiapparrone , P. Morán, E. Rodríguez , C. Morsella , F. Paolicchi , P. Soto , M. Catena mlchiapp@vet.unicen.edu.ar

B23- DESCRIPCIÓN DE PROTEÍNAS DE CAMPYLOBACTER FETUS CON POTENCIALIDAD DIAGNÓSTICA

MV. Gal, S. Cravero, C. Morsella, F. Paolicchi, A. Gioffré gal.veronica@inta.gob.ar

B24- ESTAFILOCOCOS RESISTENTES A LA METICILINA (SRM) EN ANIMALES: IMPORTANCIA DE SU IDENTIFICACION PARA LA SALUD ANIMAL Y LA SALUD PÚBLICA

G. Giacoboni , F. Vinocur , N. Fauret , P. Manzuc, J. Gardinetti, M. Kienast J. Cappuccio C. Perfumo giacoboni@fcvunlp.edu.ar

B25- PÉRDIDAS REPRODUCTIVAS EN BOVINOS DE LA REGIÓN PAMPEANA ASOCIADOS A SEROPOSITIVIDAD A LEPTOSPIRA INTERROGANS SEJROE WOLFFI Y HARDJO

G Cantón, A Fiorentino, A Moreira, Y Hecker, A Verna, P Moore, F Paolicchi, L Lischinsky, N Licoff, A Odeón, E Odriozola, E Morrell, B Brihuega. [*canton.german@inta.gob.ar](mailto:canton.german@inta.gob.ar)

B26- ADENITIS EQUINA: IDENTIFICACIÓN DE LOS ALELOS SEM DE STREPTOCOCCUS EQUI SUBSP. EQUI CIRCULANTES EN LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES DURANTE 2010-2013

C Bustos, M Mesplet, J Marfil, N Lanza, N Guida carlabustos@fvet.uba.ar

B27- PRIMER REPORTE DE AISLAMIENTO DE SALMONELLA ODIENNE EN VETERINARIA

MJ Gallardo, C Bustos; G Retamar; A Muñoz; A García Liñeiro; M. Herrera; N Guida; P Chacana; M Mesplet - mmesplet@fvet.uba.ar

B28- DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO Y MOLECULAR DE SALMONELLA ABORTUSEQUI DURANTE EL AÑO 2016

C Bustos, M Herrera, A Vissani, C Olguin Perglioni, N Guida, P Chacana - bustos.carla@inta.gob.ar

B29- AISLAMIENTO Y CARACTERIZACION DE CEPAS DE CLOSTRIDIUM PERFRINGENS EN ANIMALES SILVESTRES.

J. S. Bucci; E. A. Redondo ; J. E. Dominguez ; M.F. Lois; L.M. Redondo ; M.E. Fernandez-Miyakawa . redondo.leandro@inta.gob.ar

B30- DETECCIÓN DE BRACHYSPIRASPP.Y SU RELACIÓN CON LA PRODUCCIÓN DE HUEVOS EN GALLINAS PONEDORAS.

Basconi D., Illanes N, Gutierrez V., Romanini S., Cabral A., Bertone J., Yaciuk R., Pelliza B. nillanes@ayv.unrc.edu.ar

B31- PUESTA A PUNTO DE UNA PCR PARA EL DIAGNOSTICO DE LA LANA SISAL EN OVINOS MERINO DE LA PATAGONIA

Abdala A. M., Alvarez, L., Farber, M, Robles, C. abdala.alejandra@inta.gob.ar;

B32- PROTOCOLO DE PASTEURIZACIÓN DE CALOSTRO COMO INICIO DEL SANEAMIENTO EN EL RODEO LECHERO

Dodero, A.M., Gutierrez, G., Martinez, G.M., Chavez, M. dodero.ana@inta.gob.ar

B33- TIPIFICACIÓN BACTERIOLÓGIA Y BIOQUÍMICA DE AISLAMIENTOS DE BRUCELLA MELITENSIS PROVENIENTES DE LA PROVINCIA DE SAN LUIS.

Arregui, M ; Delgado, MG; Navarro, ; Rodríguez, M; Samartino, L arregui.matias@inta.gob.ar

B34- IDENTIFICACION DE BACTERIAS DE RIESGO ZONÓTICO DEL ORDEN RICKETTSIALES A PARTIR DE GARRAPATAS RHIPICEPHALUS SANGUINEUS S.L. EN BUENOS AIRES

EC Guillemi, S de la Fourniere, M Martínez Vivot, F Fernandez, MD Farber. guillemi.eliana@inta.gob.ar

B35- MICOBACTERIOSIS: REPORTE DE DOS SCHNAUZER MINIATURA CON MYCOBACTERIUM AVIUM SUBESP. HOMINISSUIS Y UN GATO COMÚN EUROPEO CON MYCOBACTERIUM BOVIS

S.Barandiaran, E. Falzoni; J. Marfil, B. Campos, M. Zumárraga, G. Pérez Tort, A. Fiorentino, M. Rossano, M. Martínez Vivot - sbaran@fvet.uba.ar

B36- EVALUACIÓN DE LA SUPERVIVENCIA DE CAMPYLOBACTER TERMOFÍLICOS EN DIFERENTES MEDIOS DE CRIOPRESERVACIÓN

P. Joaquim, V. Baldone, B. Brihuega, P. Chacana - joaquim.patricia@inta.gob.ar

B37- INDICADORES DE CRECIMIENTO PARA LA APROXIMACIÓN DIAGNÓSTICA DE MYCOBACTERIUM AVIUM SUBSP. PARATUBERCULOSIS EN MEDIO DE CULTIVO LÍQUIDO

MA. Romero LM Peralta, MF Alvarado, GE Travería. magaliandrea.romero@yahoo.com.ar

B38- DETECCIÓN DE LEPTOSPIRAS PATÓGENAS EN SUEROS CANINOS MEDIANTE LA AMPLIFICACIÓN ISOTÉRMICA MEDIADA POR LA FORMACIÓN DE LOOPS (LAMP).

S. Grune Loffler , L. Redondo , C. Leiva , M. Jacobsen , M. Martínez , G. Romero , B. Brihuega grune.sylvia@inta.gob.ar

B39- USO DE PARÁMETROS DE EVALUACIÓN SEMINAL COMO INDICADORES DE DAÑO CAUSADO POR PA TÓGENOS DE LA REPRODUCCIÓN

C. Cagnoli , M.L. Chiapparrone , C. Cacciato ; P. Soto , M. Catena ccagnoli@vet.unicen.edu.ar

B40- ESTUDIO LONGITUDINAL SOBRE TRASMISIÓN Y PERSISTENCIA DE E. Coli O157:H7 EN BOVINOS

L. C. Rhades; F.J. Babinec; A. A. Cataldi; A. Pordomingo; M. Larzabal; V. N. Baldone ; N. Amigo
L. Urquiza ; L. Gelid ; P. J. Delicia ; M. C. Fort rhades.luis@inta.gob.ar

B41- IDENTIFICACIÓN DE AGENTES ETIOLÓGICOS EN VACAS LECHERAS DE PRODUCCIÓN FAMILIAR CON MASTITIS EN LA PROVINCIA DE MISIONES

J. Giraudo; E. Sticotti; M. Mació; M. Schneider; C. Rang; E. Rojo; V. García; G. Magnano; A. Macías - esticotti@ayv.unrc.edu.ar

EPIDEMIOLOGIA

E1- TUBERCULOSIS EN GATOS DOMÉSTICOS Y EN TERNEROS EN UN RODEO LECHERO DEL PARTIDO DE BOLIVAR, PROVINCIA DE BUENOS AIRES

Garro, C.J., González, F. , Zumárraga, M. , Marfil, M. , Morris, W. , Delgado, F. , Garbaccio, S.
garro.carlos@inta.gob.ar

E2- ENCUESTA SEROLÓGICA DE BRUCELOSIS CAPRINA EN LA PROVINCIA DE SANTA FE: RESULTADOS PRELIMINARES.

S. Palmero, N. Aguirre, V. Orcellet, S.Torioni, V. Vanzini spalmero@unl.edu.ar

E3- LEPTOSPIROSIS: RESULTADOS SEROLÓGICOS, BACTERIOLÓGICOS Y MOLECULARES

Francois Silvina, Petrakovsky Jessica, Koval Ariel, Farace María Isabel, Tealdo Marta, Draghi Graciela, Brihuega Bibiana

E4- NEOSPOROSIS BOVINA: ESTATUS DE INFECCIÓN DEFINIDO POR IFI Y cELISA EN MUESTRAS DE SUERO OBTENIDAS PERIÓDICAMENTE DE VACAS LECHERAS

B. Valentini, E. Primo, S. Torioni de Echaide, I. Echaide. alentini.beatriz@inta.gob.ar

E5- RELEVAMIENTO SANITARIO EN BOVINOS PARA CARNE DE ISLAS Y COSTA DE TRES DEPARTAMENTOS DE LA ZONA CENTRO-LITORAL DE SANTA FE. PRIMERA ETAPA.

Echaide, I., N. Aguirre, C. Thompson, M. Ferreira, J. Pane, A. Bugnón, M. Signorini, B. Valentini, Primo, E, S. Torioni de Echaide echaide.ignacio@inta.gob.ar

E6- PREVALENCIA DE PARATUBERCULOSIS BOVINA EN RODEOS DE CRÍA DEL DEPARTAMENTO SAN CRISTÓBAL (SANTA FE) ARGENTINA (RESULTADOS PRELIMINARES)

Abdala, A; Aguirre N. ; Luca, E; Storani, G ; Torioni de Echaide, S abdala.alejandro@inta.gob.ar

E7- PREVALENCIA DE BRUCELOSIS CAPRINA EN LA REGION CHAQUEÑA DE SALTA

Neumann, R.D.^{1*}, Salatin, A.O. ¹, Rossetto, C.B.², Aguirre, D.H. ¹; Cortez, H.S. ¹; Bertoni, E.A.¹; Suárez, V.H.;

Marinconz, R.; Grossberger, G. ; Ferreyra, M.J.; E.A.; Gaido, A.B. [†]
neumann.roberto@inta.gob.ar

E8- FASCIOSIS EN BOVINOS DE DOS ECORREGIONES DE LA PROVINCIA DE SALTA

Neumann, R.D., Viñabal, A.E. , Salatin, A.O. , Cafrune, M.M. , Ferreyra, M.J.
neumann.roberto@inta.gob.ar

E9- SEROPREVALENCIA DE BRUCELOSIS EN CANINOS DE ESTUDIANTES DE MEDICINA VETERINARIA (UNRC)

Martín, V.; Labari, G. ; Richardet, M. ; Fiorimanti, M. ; Ulagnero, L.; Benavent, M. ; Bosque, A.; Espinoza, L.; Motta, C; Vissio, C. ; Bagnis G vmartin@ayv.unrc.edu.ar

E10- PARATUBERCULOSIS BOVINA: DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO CON UN ELISA UREA PARA INTENTAR CATEGORIZAR EL ESTADIO DE LA ENFERMEDAD

LA. Di Paolo, MF. Alvarado Pinedo, LM. Peralta, MA. Romero, GE. Travería
ladipaolofcv@gmail.com

E11- PRESENCIA DE ANTICUERPOS PARA TOXOPLASMA GONDII Y NEOSPORA CANINUM Y SU RELACIÓN CON ABORTOS EN CABRAS DE LA PROVINCIA DE LA RIOJA, ARGENTINA

Gos ML, Steffen KD, Pardini L, Fiorentino MA, Vera TA, Brunello GE, Campero LM, Unzaga JM, Moré GA, Venturini MC mlgos@fcv.unlp.edu.ar

E12- BÚSQUEDA DE ANTICUERPOS CONTRA DISTINTAS ENFERMEDADES EN OVINOS DE LA PROVINCIA DE LA PAMPA

M. S. Kin, G. Giono; H. Giménez, M.B. Gómez, M. Castillo, B. Brihuega, M. Fort
kinsusana@yahoo.com.ar

E13- DIAGNOSTICO DE ENFERMEDADES VIRALES EQUINAS COMO REQUISITO PARA LA IMPORTACION Y EXPORTACION DE CABALLOS

C. Olguin Perglione, M.A. Vissani, O. Zabal; M.S. Tordoya, L. Becerra, S. Miño, M.
olguin.cecilia@inta.gob.ar

E14- ESTUDIOS SEROLÓGICOS DE LEPTOSPIRA SPP. EN PORCINOS DE TRASPATIO EN GENERAL MADARIAGA, BUENOS AIRES: RESULTADOS PRELIMINARES

PL. Martin; E. Pérez; D. Blanco; J. Grant; MA. Quiroga, MC. Molina, L. Fontana, IM. Lorenzo;
MS. Arauz plmartin@fcv.unlp.edu.ar

E15- DETECCIÓN DE ANTICUERPOS PARA TOXOPLASMA GONDII Y NEOSPORA CANINUM EN BOVINOS Y OVINOS DE ESTABLECIMIENTOS RURALES DE TIERRA DEL FUEGO

V. Disalvo, M.C. Venturini, E. Bonzo laboratorio@asociacionruraltdf.org

E16- RELEVAMIENTO DE AISLAMIENTOS BACTERIANOS EN EL LABORATORIO ESCUELA DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS DURANTE 2009-2016

G Retamar, N Sarcone, JM Gallardo, K Castillo, A Perez, V Sirotinsky, L Gramajo, C Bustos, A Etchecopaz, P Franco, A Muñoz, M Mesplet, N Guida nguida@fvet.uba.ar

E17- ESTUDIO DE SEROPREVALENCIA A HERPESVIRUS CAPRINO EN CABRAS DE DISTINTAS REGIONES DE ARGENTINA

Echague H, Ferrecio C, García S Maidana, S., Dodero A, Neumann R; Cortez S; Rodriguez A; Odeon M; María Gabriela Delgado, Romera, S. romera.alejandra@inta.gob.ar

E18- ESTUDIO LONGITUDINAL DE UN BROTE DE CRIPTOSPORIDIOSIS EN TERNEROS DE UN TAMBO DE ARGENTINA

Toledo J., Tomazic M.L., Lombardelli J., Galarza R, Tiranti K, Garro C.J.¹, Florin-Christensen M. y Schnittger L.
tomazic.mariela@inta.gob.ar

E19- AISLAMIENTOS DE LEVADURAS REALIZADOS EN EL LABORATORIO DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS DURANTE 1996-2015

A Etchecopaz, G Retamar, M Mesplet, N Guida nguida@fvet.uba.ar

E20- ESTUDIO SEROEPIDEMIOLÓGICO DE LA BRUCELOSIS CANINA EN EL PARTIDO DE BAHÍA BLANCA

A. Prochazka, E. Bonzo, G. Miceli y E. Mortola mortola@fcv.unlp.edu.ar

E21- ACTUALIZACIÓN DE LA SITUACIÓN DE LA BRUCELOSIS EN RUMIANTES DOMÉSTICOS DE LA PROVINCIA DE FORMOSA, ARGENTINA

D. Martinez , A.M. Russo, , C. Storani, R. Jacobo, F. Cipolini; E. Martinez, O.A. Mancebo, M.G. Espasandín, S. Torioni de Echaide [e-mail: demartinez@vet.unne.edu.ar](mailto:demartinez@vet.unne.edu.ar)

E22- ESTUDIO DE PREVALENCIA DE LEPTOSPIROSIS EN CAPRINOS DEL DEPARTAMENTO BELGRANO, PROVINCIA DE SAN LUIS, ARGENTINA

B. Brihuega , G. Delgado., E. Martín Rodríguez. , M. J. Spina ,S. Grune, M. Martinez , G. Romero, L. Samartino , C Garro brihuega.bibiana@inta.gob.ar

E23- DISTRIBUCIÓN ESPACIAL DE LA SEROPREVALENCIA Y DE LOS FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LA BRUCELOSIS Y LEPTOSPIROSIS EN CANINOS DE MARÍA IGNACIA VELA

M. Rivero, B. Morón, J. Silva, E. Scialfa, M. Molina Mola, M. Olivera, R. Perdomo, E. Rau, A. Aguiar, M. Carrizo, J. Passucci, F. Moreno, M. Signorini, S. Estein. mrivero@vet.unicen.edu.ar

E24- EPIDEMIOLOGÍA DE BRUCELOSIS Y LEPTOSPIROSIS CANINA EN MARIA IGNACIA VELA.

M. Rivero, J. Silva, E. Scialfa, M. Molina Mola, M. Olivera, R. Perdomo, E. Rau, A. Aguiar, M. Carrizo, J. Passucci, M. Signorini, S. Estein mrivero@vet.unicen.edu.ar

E25- PREVALENCIA DE ENTEROPATÓGENOS ASOCIADOS A LA EDAD Y AL SÍNDROME DIARREICO EN TERNEROS DE RODEOS LECHEROS DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES.

Garro, C.J., Morici, G., Tomazic, M., Vilte, D., Bok, M., Vega, C., Parreño, V. , Schnittger, L. garro.carlos@inta.gob.ar

E26- ESTUDIO SEROEPIDEMIOLÓGICO DE LEPTOSPIROSIS CANINA EN EL PARTIDO DE LOMAS DE ZAMORA

S. Moldes, P.L.Martin y E. Mortola mortola@fcv.unlp.edu.ar

E27- PREVALENCIA DE TRICOMONOSIS Y CAMPYLOBACTERIOSIS EN RODEOS BOVINOS DE LA PROVINCIA DE SALTA

C Casaretto ; C Gorchs; A Mazzuca; M Burgos Zamudio - carolina.gorchs@labsanidro.com.ar

E 28- FACTORES ASOCIADOS A LA SEROPREVALENCIA DE CUATRO ENFERMEDADES REPRODUCTIVAS DE LOS BOVINOS EN EL PARTIDO DE OLAVARRIA.

Späth, E.J.A.¹, Odeón, A.C.¹; Nagy Gyuris, G. ²; Moore^{1,3}; D.P.; Armendano, J.I.^{1,4}. spath.ernesto@inta.gob.ar

INMUNOLOGIA

I1- COMPARACIÓN DE DIFERENTES PRUEBAS SEROLÓGICAS PARA EL DIAGNÓSTICO DE NEOSPOROSIS BOVINA

B. Valentini, S. Caspe, E. Primo, S. Torioni de Echaide, I. Echaide
valentini.beatriz@inta.gob.ar

I2- USO DE LA TÉCNICA DE POLARIZACIÓN FLUORESCENTE PARA EL DIAGNÓSTICO DE BRUCELLA EN CHAETOPHRACTUS VILLOSUS

M. S. Kin, H. Giménez , M. Fort

I3- ESTANDARIZACIÓN DE LA POTENCIA DE LA TUBERCULINA BOVINA

A. Bernardelli, F. Martino, C. Martino, J. Rui, A. Briggiler, A. Baima, P. Costamagna, M. Signorini

I4- RESPUESTA VACUNAL A IBR EN TERNEROS CON HIPOCUPROSIS

Lizarraga RM, Galarza EM, Rosa DE, Lasta G, Mattioli GA mattioli.fcv.unlp@gmail.com

I5- DESARROLLO DE METODOLOGÍAS INMUNOLÓGICAS PARA LA MEDICIÓN DE EFICACIA DE VACUNAS ANTI-AFTOSA EN CERDOS

FC Mansilla, JM Sala, S Galdo Novo, F Besone, MV Trotta, Fabrisio Alustiza, Raul Franco, Jorge Brunori, HG Piscitelli, AV Capozzo capozzo.alejandra@inta.gob.ar

I6- DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE UN KIT DE ELISA PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA NEOSPOROSIS BOVINA

FC Mansilla, I Gual, MS Pérez-Aguirreburualde, NP Cardoso, ME Quintana, AV Capozzo

I7- INMUNOGENICIDAD DE DISTINTAS VACUNAS INACTIVADAS DE SALMONELLA AVIARES DE USO EN LA ARGENTINA

M Bombicino, C Leiva, A Kaloghlian, MV Terrera y P Chacana mbombicino@senasa.gov.ar

I8- APLICACIÓN DE UN ELISA NACIONAL PARA DIFERENCIAR INFECCIONES AGUDAS DE CRÓNICAS DE NEOSPOORA CANUNIM EN DIFERENTES SISTEMAS PRODUCTIVOS

R. Pereyra, R. Neumann, F. Mansilla, V. H. Suarez, A. Capozzo

I9- EVALUACIÓN DE LA INMUNOREACTIVIDAD Y CONSERVACION DE CANDIDATOS VACUNALES DE CRYPTOSPORIDIUM PARVUM

Tomazic M.L. Lombardelli J., Poklepovich T., Rodriguez A.E., Galarza R., Toledo J. Garro C.¹, Tiranti K., Florin-Christensen M. y Schnittger L. tomazic.mariela@inta.gob.ar

I10- DIAGNÓSTICO DE BRUCELOSIS PORCINA: ANÁLISIS DE CONCORDANCIA ENTRE PRUEBAS SEROLÓGICAS PARA ESTABLECIMIENTOS ENDÉMICOS Y LIBRES

R. Bence ; S.E. Gutiérrez P. Soto ; H. M. Echevarría C.S. Cacciato M.A. Rivero , S. M. Estein
arbence@vet.unicen.edu.ar

I11- RESULTADOS PRELIMINARES DE UN ELISA PARA ANAPLASMOSIS QUE PERMITE DIFERENCIAR ANIMALES VACUNADOS DE INFECTADOS.

M. Sarli, C.S. Thompson, M. B. Novoa, S. T de Echaide y M. E. Primo primo.maria@inta.gob.ar

I12- OPTIMIZACION DE UN ELISA INDIRECTO PARA CUANTIFICAR ANTICUERPOS BOVINOS CONTRA PARAINFLUENZA VIRUS 3

Echague H, Ferrecio C, García S Maidana, S., Rodriguez A; Odeon M; Parreño V , Romera, S.
romera.alejandra@inta.gob.ar

I13- DINAMICA DE ANTICUERPOS CONTRA *Actinobacillus Pleuropneumoniae* en hembras con diferente número ordinal de partos

P. Tamiozzo, A. Carranza, B. Menseguez, A. Ambrogio ptamiozzo@ayv.unrc.edu.ar

I14- RESPUESTA INMUNE HUMORAL EN TERNERAS PREPÚBERES INMUNIZADAS CON LA CEPA LOCAL NC- Argentina LP1 DE *NEOSPORA CANINUM*

Y Hecker, F Fiorani , I Gual, MR Leunda, S Pereyra, M Mazzanti, L Olmos, I Llada, J Migliavacca, E Louge, LM Campero, P Zamorano, G Cantón, A Odeón, DP Moore.

PARASITOLOGIA

P1- EFECTO DE LOS NEMATODES GASTROINTESTINALES SOBRE LOS NIVELES SERICOS DE CALCIO, FOSFORO, MAGNESIO, COBRE Y ZINC EN TERNEROS.

Micheloud, J.F; Martínez, G.M.; Rosa, D.E; Ventura, M.B; Mattioli, G.A; Suárez, V.H.
micheloud.juan@inta.gob.ar

P2- TASAS DE SEROPOSITIVIDAD PARA NEOSPORA CANINUM, TOXOPLASMA GONDII Y SARCOCYSTIS SPP. EN CIERVOS COLORADOS (CERVUS ELAPHUS).

Dellarupe A, Moré G, Soler JP, Rambeaud M, Pardini L, Campero LM, Gos ML, Unzaga JM, Venturini MC.

P3- NEOSPOROSIS (Neospora caninum): REPORTE DE UN CASO EN UN CANINO DEL NORTE DE LA PROVINCIA DE CORRIENTES

R. Cardozo, C. Storani, D. Martinez, F. Bogado, M.F. Cipolin rb-cardozo@hotmail.com

P4- EL PRIMER ESTUDIO COMPARATIVO INTER-LABORATORIAL IBEROAMERICANO DE PRUEBAS SEROLÓGICAS PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA NEOSPOROSIS BOVINA DEMOSTRÓ VARIABILIDAD DE RESULTADOS

[Campero LM, Moreno-Gonzalo J, Venturini MC, Moré G, Dellarupe A, Rambeaud M, Valentini, B, Echaide I, Campero CM, Moore DP, Fort M, Mota RA, Serrano-Martínez ME, Cruz-Vázquez C, Ortega-Mora LM, Álvarez-García G. \[lcampero@fcv.unlp.edu.ar\]\(mailto:lcampero@fcv.unlp.edu.ar\)](#)

P5- EPIDEMIOLOGÍA Y DIAGNÓSTICO DE LA PIROPLASMOSIS CANINA EN BUENOS AIRES

D. F. Eiras , D. Vezzani, G. Moré diegoeiras@fcv.unlp.edu.ar

P6- DETECCIÓN DE REACCIONES SEROLÓGICAS HACIA ANTÍGENOS INMUNODOMINANTES POR IMMUNOBLOT Y COMPARACIÓN CON INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA PARA EL DIAGNOSTICO DE NEOSPOROSIS Y TOXOPLASMOSIS EN PERROS

De Felice L, Campero LM, Venturini MC, Unzaga JM ldefelice@fcv.unlp.edu.ar

P7- DESARROLLO DE UNA PCR SEMIANIDADA DÚPLEX PARA LA DETECCIÓN DE ADN DE Sarcocystis aucheniae EN MUESTRAS DE SANGRE DE LLAMA

C. Decker Franco, S. Romero, A. Ferrari, R. Mamani, L. Schnittger, M. Florin-Christensen
decker.cecilia@inta.gob.ar

P8- EVIDENCIAS MORFOLOGICAS Y MOLECULARES SOBRE UNA NUEVA ESPECIE DE DIROFILARIA EN PERROS DEL NORTE DE LA PATAGONIA ARGENTINA

D. Vezzani, G. Moré, A. Varni, D.F. Eiras bpleiras@gmail.com

P9- AUSENCIA DE ANTICUERPOS ESPECIFICOS EN UNA VACA INFECTADA CON NEOSPORA CANINUM

Gual I, Campero LM, Hecker YP, Leunda MR, Cano DB, Venturini MC, Odeón AC, Moore DP.
gual.ignacio@inta.gob.ar

P10- DIAGNÓSTICO DE ENDO Y ECTO PARASITOS EN BÚFALOS (*Bubalus bubalis*); EN LOS DEPARTAMENTOS DEL NOROESTE DE LA PROVINCIA DE CORRIENTES.

J. D. Alvarez; T. Rigonatto; E. I. Martínez; O. Racioppi; S. E. Ramirez
parasito@vet.unne.edu.ar

P11- EVALUACIÓN DE AISLAMIENTOS DE TRITRICHOMONAS FOETUS SOBRE EL MODELO MURINO EN GESTACIÓN

Monteavaro, C , Doumecq, M.L ; Falcon, J.E.; Soto P . Barbeito, C.
cmonteav@vet.unicen.edu.ar

P12- ESTUDIO SEROLÓGICO DE TOXOPLASMA GONDII Y NEOSPORA CANINUM EN ROEDORES SINANTRÓPICOS DE ZONAS URBANAS Y PERIURBANAS DE LA CIUDAD DE LA PLATA

Dellarupe A, Fitte B, Robles MR, Navone G, Campero, LM, Bernstein, M; Rambeaud, M, Venturini, MC, Unzaga JM. adellarupe@gmail.com

P13- EXTRACCIÓN DE ADN DE LEISHMANIA SPP. A PARTIR DE SANGRE ENTERA CANINA: NUEVO METODO SENSIBLE DE BAJO COSTO

M.E. Ascencio, M. Florin-Christensen, L. Schnittger. Rodríguez rodriguez.anabel@inta.gob.ar

P14- DIAGNOSTICO MOLECULAR POR PCR DE TRYPANOSOMA EVANSI EN EQUINOS DE LA PROVINCIA DE FORMOSA

E.F. Dubois, M.S. Paoletta, A.S.Florentin, A.M.Russo, C.M. Monzón, S.E. Wilkowsky
fernando_dubois@hormail.com

P15- DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE TRYPANOSOMA VIVAX EN PEQUEÑOS RUMIANTES

DEL ESTE DE LA PROVINCIA DE FORMOSA

Florentin AS, Paoletta MS, Dubois EF, Monzón CM, Wilkowsky SE florentinas@gmail.com

P16- ESTUDIO DE PREVALENCIA DE HEPATOZOON spp. EN CANINOS DE LA CIUDAD DE JUANA KOSLAY (SAN LUIS)

Moyano J. D. y Rossanigo C. E. rossanigo.carlos@inta.gob.ar

P17- PRINCIPALES GÉNEROS DE GARRAPATAS PREVALENTES EN BOVINOS DE PEQUEÑOS PRODUCTORES LECHEROS DE LA PROVINCIA DE MISIONES

H. Lovera; E. Sticotti; M. Mació; M. Schneider; C. Rang; C. Motta; G.; E. Bergamo; J. Giraudo
hlovera@ayv.unrc.edu.ar

P18- EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA ANTIHELMINTICA EN MAJADAS DEL CENTRO-SUR DE CORDOBA (ARGENTINA). RESULTADOS PRELIMINARES

H. Lovera; V. Nievas; J. Fernandez; E. Sticotti, J. Raviolo, C. Descarga; J. Giraudo
hlovera@ayv.unrc.edu.ar

P19- ANÁLISIS DE BROTES DE BABESIOSIS Y ANAPLASMOSIS BOVINA DIAGNOSTICADOS EN EL ÁREA DE SALUD ANIMAL DEL INTA SALTA, ARGENTINA. PERÍODO 2006-2016

V. Aráoz ; J.F. Micheloud; A.B. Gaido†; A.O. Salatin; D.H. Aguirre araoz.virginia@inta.gob.ar

P20- EPIDEMIOLOGÍA Y EFECTO DE LOS PARÁSITOS GASTROINTESTINALES EN LA CRÍA BOVINA DE LA REGIÓN DE SELVAS Y PASTIZALES PEDEMONTANOS

V.H. Suárez, J.F. Micheloud, G.M. Martínez, A.E. Viñabal vsuarez@correo.inta.gov.ar

P21- DETERMINACIÓN DE Hepatozoon canis EN CANINOS DEL CENTRO DE REINSERCIÓN MUNICIPAL DE LA CIUDAD DE RÍO CUARTO

C. Motta; L. Espinoza; M. Fiorimanti; M. Richardet; H. Lovera; C. Guendulain; P. Gonzalez; V. Nuesch; S. Oberto; Martin, V. cmotta@ayv.unrc.edu

P22- SEROPREVALENCIA DE NEOSPOROSIS EN BOVINOS PERTENECIENTE A PEQUEÑOS PRODUCTORES EN LA CUENCA LECHERA DE AURORA, PROVINCIA DE MISIONES

J. Fernández; J. Giraudo; E. Sticotti; M. Mació; M. Schneider; C. Rang; A. Rojo; G.Gomez; V. Nievas; C. Sturniolo; H. Lovera; E. Bergamo; D. Zubeldia - jgiraudo@ayv.unrc.edu.ar

PATOLOGIA

PT1- NIVELES SERICOS DE CALCIO, FOSFORO, MAGNESIO, COBRE Y ZINC EN VACAS DE CRIA Y TERNEROS EN EL CHACO TROPICAL SALTEÑO.

Micheloud, J.F; Suárez, V.H, Martínez, G.M.; Rosa DE, Ventura MB, Mattioli, GA.

micheloud.juan@inta.gob.ar

PT2- USO DE TIRAS REACTIVAS DE ORINA PARA ESTIMAR LA PREVALENCIA EN RODEOS AFECTADOS POR HEMATURIA ENZOOTICA BOVINA.

Micheloud JF ; Colque Caro LA; Suarez V; Riet-Correa F micheloud.juan@inta.gob.ar

PT3- DEFICIENCIA PRIMARIA DE SELENIO EN CORDEROS CON DIAGNÓSTICO PRESUNTIVO DE MIOPATÍA NUTRICIONAL

Rodríguez AM, Cesa A, Victoria D, Schmidt D, Fernández EL, Brambilla EC rodriguez.alejandro@inta.gob.ar

PT4- EVALUACION DE MODELO EXPERIMENTAL PARA OBTENCIÓN DE CÉLULAS CON POTENCIAL NEUROGÉNICO DE MÉDULA ESPINAL EN RATAS

RB Luna, A Pastoriza, RA Guerrero, RE Escalante. lunarominab@gmail.com

PT5- HALLAZGOS EN NERVIO SOMATICO A TENER EN CUENTA EN EL DIAGNÓSTICO POST-MORTEN DE PATOLOGÍAS DE TRASTORNO MOTOR EN ANIMALES

RB Luna, H Parry Vega, AR Guerrero, ER Escalante, HS Grifasi lunarominab@gmail.com

PT6- VARIACIONES HEMATOLÓGICAS Y BIOQUÍMICAS EN CANINOS CON TUMOR VENÉREO TRANSMISIBLE INDUCIDAS POR EL TRATAMIENTO CON VINCISTINA

C. Maffrand; A. Benzoni; G.Cabral; M.Fiorimanti; A.Alcoba, G. Morilla, S. Rossi; C. Merkis.

cmaffrand@hotmail.com

PT7- REGIONES ORGANIZADORAS NUCLEOLARES EN EL PRONÓSTICO DEL TUMOR VENÉREO TRANSMISIBLE CANINO

C. Maffrand; A. Benzoni; A. Alcoba, S. Babini; N. Schleeff; M. Fiorimanti; C. Merkis. cmaffrand@hotmail.com

PT8- ELECTROLITOS Y GASES EN SANGRE EN CANINOS Y FELINOS QUE INGRESAN AL SERVICIO DE URGENCIA Y CUIDADOS INTENSIVOS DE LA CLINICA VETERINARIA

J. Galvez , J. Mouli, A. Larsen y E. Mortola mortola@fcv.unlp.edu.ar

PT9- CASUISTICA DE PLANTAS TOXICAS EN EL NORESTE ARGENTINO, DURANTE EL PERIODO 2005 A 2015

P. Thompson; S.G. Caspe; E. J.A.Späth; L.A. Cholich; J.M._Sala sala.juan@inta.gob.ar

PT10- ALTERACIONES DE LOS FACTORES PLASMATICOS Y SU IMPLICANCIA EN LAS PRUEBAS HEMOSTATICAS BASICAS EN PACIENTES CON TRIADA LETAL

Esarte, MS; Baratcabal FM; Pérez M; Márquez, AG; Calvo, D; Fuensalida S; Falzoni E; Micciullo, VS marcesarte@hotmail.com

PT11- ESPONGIOSIS CEREBELAR Y CEREBRAL CONGÉNITA EN TERNEROS ASOCIADA AL CONSUMO DE STENOCARPELLA MAYDIS

J. Cora Ibarra, I. Llada, J. Migliavaca, M. Mazzanti, L. Olmos, L. Lischinsky, Y. Hecker, A. Odeón, G. Cantón, E. Odriozola *odriozola.ernesto@inta.gob.ar

PT12- EFECTO DE LA DEFICIENCIA DE Zn SOBRE LAS GANANCIAS EN TERNEROS

Galarza EM, Rosa DE, Lizarraga RM, Cámpora L, Mattioli GA mattioli.fcv.unlp@gmail.com

PT13- MAL DEL PIQUILLÍN: REPRODUCCIÓN EXPERIMENTAL EN POLLOS PARRILLEROS

G. Jáuregui, E. Redondo, D. Cristos, A. Salvat, F. Delgado jauregui.gloria@inta.gob.ar

PT14- LA ADICIÓN DE TANINOS DE CASTAÑO Y QUEBRACHO EN LA DIETA ESTABILIZA LA MICROBIOTA RUMINAL EN BOVINOS.

J.M. Díaz Carrasco; C. Cabral, L.M. Redondo , N. Pin Viso , M.D. Farber , M.E. Fernández Miyakawa diazcarrasco.j@inta.gob.ar

PT15- LA ANEMIA COMO CONSECUENCIA TEMPRANA DE LA HIPOCUPROSIS EN TERNEROS

Rosa DE, Lizarraga RM, Galarza EM, Fazzio LE, Mattioli GA mattioli.fcv.unlp@gmail.com

PT16- PROCESAMIENTO DE MUESTRA DE SANGRE DE LLAMA: PURIFICACIÓN DE GLÓBULOS BLANCOS

MM Odeon, S Romero, SA Romera romera.alejandra@inta.gob.ar

PT17- DIAGNÓSTICO MACROSCÓPICO DE ABSCESO HEPÁTICO EN BOVINOS PARA CARNE TERMINANDOS EN CONFINAMIENTO UTILIZANDO DISTINTOS PROMOTORES DE CRECIMIENTO

C Cabral, E. Redondo, F Delgado ccabral@silvateam.com

PT18- VALORES DE CALCIO, FOSFORO, MAGNESIO Y PROTEINAS EN SUERO DE LLAMAS (LAMA GLAMA) DE LA PROVINCIA DE JUJUY

R.E. Marin, O.D.Medina, P.A. Corregidor raulemarin@hotmail.com

PT19- VALORES HEMATOLÓGICOS Y BIOQUÍMICOS DEL PUMA ANDINO (Puma concolor) EN LA ESTACIÓN DE FAUNA AUTÓCTONA DE LAS COSTAS DE SAN LORENZO, SALTA, ARGENTINA.

Mazzuca A, Borrelli L, Aquino J laboratorio.veterinaria@ucasal.edu.ar

PT20- OBSERVACIÓN DE LEISHMANIA SPP. EN TUMOR VENÉREO TRASMISIBLE EN UNA HEMBRA CANINA EN LA CIUDAD DE MERCEDES, CORRIENTES.

M.V. Pertile Carla Natalia; M.V. Bazzalo Valeria. Carlapertile10@hotmail.com ; valeriabazzalo@hotmail.com

PT21- CANCER MAMARIO CANINO: EXPRESIÓN DEL ONCOGEN HER2-NEU EN LOS DISTINTOS TIPOS HISTOPATOLÓGICOS

Pereira, M.E.; Fidanza, M.M.; Arteze, J.; Vartabedian, A; Falzoni, E mpereira@fvet.uba.ar

PT 22- MODIFICACIONES DEL MEDIO INTERNO EN CANINOS CON INSUFICIENCIA CARDIACA CONGESTIVA

González Sebastián ; Buzzano Orlando ; Artese Joaquín ; Jensen Mario ; Falzoni, E sebvvet@hotmail.com

VIROLOGIA

V1- OBTENCIÓN Y EVALUACIÓN DE CULTIVOS PRIMARIOS DE ORIGEN EPITELIAL PARA EL AISLAMIENTO DE LOS VIRUS CAEV Y ORFV

O. Zabal, AM Dodero, R. Reina, M. Valenzano, AV Peralta peralta.andrea@inta.gob.ar

V2- COINFECCIÓN DE ANEMIA INFECCIOSA EQUINA Y TRYPANOSOMOSIS EN EQUINOS DE TRABAJO DE UN ESTABLECIMIENTO DE BASAIL, CHACO

D. Martinez, C. Storani, R. Jacobo, F. Cipolini; E. Martinez, Espasandín, A.G demartinez@vet.unne.edu.ar

V3- DETECCIÓN DEL HERPESVIRUS BOVINO 4 EN EL TRACTO REPRODUCTIVO BOVINO DURANTE LOS ESTADIOS INICIALES DE LA GESTACIÓN

A. Verna , F. Hozbor, R. Ramírez Vasquez, E. González Altamiranda, G. Cantón, P. Morán, S. Pereyra, M. Leunda, A. Odeón, S. Pérez seperez@vet.unicen.edu.ar

V4- CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DEL VIRUS ORF EN BROTES DE ECTIMA CONTAGIOSO QUE OCURRIERON EN LA PATAGONIA ARGENTINA DURANTE EL AÑO 2014

M. Navarro, C. A. Robles, M. Valenzano, M Aguilar, A. Martínez, A. Peralta peralta.andrea@inta.gob.ar

V5- DETECCIÓN DE ANIMALES PERSISTENTEMENTE INFECTADOS CON EL VIRUS DE LA DIAREA BOVINA EN SUERO MEDIANTE UN METODO SEROLÓGICO DE ALTO RENDIMIENTO

Trotta, M, Lavoria, M., Quintana, M. E, Cardoso, N., Capozzo, A trotta.myrian@inta.gob.ar

V6- BROTE DE ENFERMEDAD VESICULAR EN UN RODEO DE CRIA DEL PARTIDO DE CHASCOMÚS. BUENOS AIRES. ARGENTINA: APROXIMACIÓN DIAGNÓSTICA PRELIMINAR.

L.A Di Paolo; M.F Alvarado Pinedo ; M.D Ancinas ; J. Zeberio; G.E Travería ladipaolo@fcv.unlp.edu.ar

V7- ARTRITIS Y ENCEFALITIS CAPRINA EN LAS PROVINCIAS DE SALTA Y JUJUY

Dodero AM, Suarez VH, Salatin AO, Raia NA, Pinto GB. dodero.ana@inta.gob.ar

V8- DESARROLLO DE UN ENSAYO DE CUANTIFICACIÓN ABSOLUTA POR PCR EN TIEMPO REAL PARA DETECTAR INFECCION POR VIRUS DE LEUCOSIS BOVINA.

L. Martínez Cuesta, M.V. Nieto Farias, P. Lendez, G. Dolcini y C. Ceriani. cceriani@vet.unicen.edu.ar

V9- COMPORTAMIENTO DE CEPAS ARGENTINAS DEL HERPESVIRUS BOVINO 4 (BoHV-4) GENETICAMENTE DIVERGENTES EN UNA INFECCIÓN EXPERIMENTAL DE TERNEROS

P. Morán, S. Pérez, A. Odeón, A. Verna . pmoran@vet.unicen.edu.ar

V10- CONTROL DE CONTAMINANTES VIRALES ADVENTICIOS EN PRODUCTOS BIOLÓGICOS. LABOR REALIZADA DURANTE 2015.

Alvarez I., Caviglia L., Politzki R., Porta N., Gutiérrez G., Jaworski J.P., Tomassini M.V., Zabal O. , Trono K. alvarez.irene@inta.gob.ar

V11- EVIDENCIA PRELIMINAR DEL VIRUS DE LA ARTRITIS-ENCEFALITIS CAPRINA (CAEV) Y EL VIRUS MAEDI-VISNA (MVV) EN CABRAS DE SAN LUIS

Alvarez Irene, Raia Alejandro, Natalia Porta, Delgado F., Carosio A., Trono K. Carlos Rossanigo
alvarez.irene@inta.gob.ar

V12- PRESENTACIÓN CLINICA DE UN CASO DE ARTRITIS-ENCEFALITIS CAPRINA (CAE) y TOXOPLASMOSIS EN SAN LUIS (ARGENTINA)

Rossanigo C. E., Delgado G., Raia A., Delgado F, Carosio A., Alvarez I., Rey J., Rodriguez M. y Page W.
rossanigo.carlos@inta.gov.ar

V13- BROTES DE ECTIMA CONTAGIOSO EN MAJADAS OVINAS Y CAPRINAS DEL CENTRO-OESTE ARGENTINO: IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE VIRUS ORF

Rossanigo C. E., Peralta A., Carosio A. , Toselli, J., Ashworth, J.

V14- PUESTA A PUNTO DE UN ENSAYO DE PCR PARA LA DETECCION DE LENTIVIRUS DE PEQUEÑOS RUMINATES: CAEV Y MVV.

Raia A, Rossanigo C., Trono K., Alvarez I. alvarez.irene@inta.gob.ar

V15- DISPOSITIVO PORTATIL BASADO EN UN SISTEMA DE PCR ISOTÉRMICA AISLADA PARA LA DETECCIÓN RÁPIDA DE HERPES VIRUS EQUINO 3.

M.A. Vissani, M.S. Tordoya, Y.L. Tsai, Y.H. Shen, P.Y. Alison Lee, H.F.G. Chang, H.T.T. Wang, M. Barrandeguy vissani.aldana@inta.gob.ar

V16- DETECCIÓN DEL VIRUS DE ANEMIA INFECCIOSA EQUINA UTILIZANDO UNA PCR ANIDADA A PARTIR DE MUESTRAS DE SANGRE DE EQUINOS DEL SUR DE CÓRDOBA

P. Tamiozzo, M. Izurieta laboratorio.arrel@gmail.com magdaizu1@hotmail.com

V 17- PRUEBA DE INFECTIVIDAD DEL VIRUS DE LA LEUCOSIS BOVINA EN CALOSTRO TERMOPROCESADO EN EL MODELO ANIMAL CORDERO

AM Dodero, GM Martinez , G Gutierrez - dodero.ana@inta.gob.ar

V18- EVALUACIÓN DE UNA ESTRATEGIA DE CONTROL DEL VIRUS DE LA DIARREA VIRAL BOVINA EN UN ESTABLECIMIENTO DE CRÍA

E. González Altamiranda, M. Goizueta, M. Spetter, E. Louge Uriarte, A. Verna, M. Leunda, S. Pereyra, A. Castellano, E Spath, A. Odeón - galtamiranda.erika@inta.gob.ar