

JORNADA PATAGÓNICA AAVLD

JORNADA PATAGÓNICA AAVLD
17 al 19 de NOVIEMBRE 2022
SAN CARLOS DE BARILOCHE

Temas:

- Virología
- Farmacoterapéutica
- Bacteriología
- Parasitología
- Zoonosis
- Plantas tóxicas
- RAM

17 Nov: Centro Regional Universitario Bariloche (CRUB)
18 y 19 Nov: Hotel Inacaya

✉ aavldinfo@gmail.com 📞 +54 9 342 5 213 630 ☎ +549 11 6 629 3562

Fundada el 21 de noviembre de 1984

Personería Jurídica 439/96

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



17 al 19 de noviembre de 2022

San Carlos de Bariloche

*Asociación Argentina de Veterinarios
de Laboratorios de Diagnóstico*

Jornada Patagónica AAVLD

Resúmenes

Benitez, Daniel Francisco; Colque Caro, Luis Adrián; Cicuttin, Gabriel; Eirin, María Emilia; Estein, Silvia
Marcela; Dus Santos, María Jose; Falzoni, Elvira María; Llorente, Patricia Laura; Pintos, María Eugenia;
Traversa, María Julia

Editores

Malacari, Darío Amilcar; Lanusse, Carlos Edmundo; Campero, Lucía María; Robles, Carlos Alejandro;
Moncá, Jacinta Ivana; Ripoll, Leonardo; Thern, Eduardo Roberto; Koval, Ariel Alejandro; Larroza, Marcela;
Villordo, Alejandra; Novaro, Laura Patricia; Abate, Sergio Damián; Martínez, Agustín; Pérez Tort, Gabriela;
Eiras, Diego Fernando; Maffrand, Carmen

Autores

Jornada Patagónica : Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico / Darío Amilcar Malacari ... [et al.] ; editado por Daniel Francisco Benitez ... [et al.]. - 1a ed. - Balcarce : Asoc. Argentina de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico, 2022.

Libro digital, PDF

Archivo Digital: descarga y online
ISBN 978-987-21667-4-8

1. Veterinaria. 2. Jornadas. 3. Diagnóstico de laboratorio . I. Malacari, Darío Amilcar. II. Benitez, Daniel Francisco, ed.

CDD 636.0890982

© Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico, 2022.

Primera edición: noviembre de 2022

ISBN 978-987-21667-4-8



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución 2.5 Argentina
http://creativecommons.org/licenses/by/2.5/ar/deed.es_AR

Comisión directiva 2022-2024

| | |
|-----------------------------|--|
| Presidente: | Dr. Sergio Garbaccio |
| Vice Presidente: | Dr. Marcelo Fort |
| Tesorera: | Dra. Patricia Llorente |
| Secretaria: | Dra. María Catena |
| Vocales titulares: | Dr. Diana Martinez Lic. Romanela Marcellino Dra. Andrea Fiorentino Dra. Carolina Gorchs |
| Vocales suplentes: | Dr. Dadin Moore Dra. Mabel Garcia Dr. Gastón Moré Dra. María L. Chiapparrone |
| Revisores Cuenta titulares: | Dr. Sebastian Elena Dra. Aldana Vissani |
| Revisores Cuenta suplentes: | Dr. Ricardo Sánchez Dra. Ivana Moncá |

Organización de la jornada

Dra. Nirma González

Comisión científica editorial

Dr. Daniel F. Benitez INTA

Dr. Gabriel Cicuttin IZLP

Méd. Vet. Esp. Luis A. Colque Caro CONICET, IIACS, INTA, CIAP

Dra. M. Emilia Eirin IABiMo, UEDD-INTA-CONICET

Dra. Silvia M. Estein SAMP FCV UNCPBA, CIVETAN, CICPBA, CONICET

Dra. M. José Dus Santos IVIT INTA

Dra. Elvira Falzoni FCV UBA

Dra. Patricia L. Llorente FCV UBA

Dra. M. Eugenia Pintos SCL, FCV UNLP

Dra. M. Julia Traversa SAMP FCV UNCPBA, CIVETAN, CICPBA, CONICET

Agradecemos a nuestros auspiciantes y patrocinantes el apoyo incondicional, el compromiso y la confianza para hacer posible esta reunión

Instituciones auspiciantes



**Instituto Nacional de
Tecnología Agropecuaria
Argentina**



SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD
Y CALIDAD AGROALIMENTARIA



Empresas patrocinantes





**Biogénesis
Bagó**



DIAGNÓSTICO Y VACUNAS
PARA LA SANIDAD ANIMAL



**Diagnóstico
Veterinario**

A m e g h i n o



**Laboratorio[®]
9 DE JULIO**

Diagnóstico Veterinario



EDACI

EMPRESA DE AUTOMATIZACIÓN
Y CONTROL INDUSTRIAL



Editorial

Estimadas/os colegas, tengo el enorme agrado de dirigirme a ustedes para darles la bienvenida a la Jornada Patagónica de la AAVLD. Esta jornada trae consigo la culminación de una propuesta surgida en el año 2018 cuyo objetivo era llevar adelante la reunión científico técnica de nuestra asociación en esta hermosa región del país. El fenómeno sanitario mundial (pandemia) vivido desde comienzos de 2020 vino a trastocar lo planificado; a pesar de esa circunstancia nos obligó a reprogramar lo previsto, retomamos esta propuesta que es hoy una realidad. Para que este recorrido llegue a buen destino debemos agradecer enormemente a la Comisión Directiva actual y la que nos precedió, en particular a la Dra. Nirma González, quien trabajó, junto a un grupo de colegas patagónicos, denodadamente para que este evento se concrete. También agradecer a cada uno de los disertantes quienes, generosamente, aceptaron la invitación y se sumaron para compartir sus conocimientos y experiencia con los participantes. Muestra de ello es el documento aquí generado donde se resume las temáticas abordadas durante esta Jornada, tanto de interés nacional como regional. Finalmente, deseo agradecer a quienes nos apoyaron desde sus patrocinios y auspicios como también a los profesionales que se inscribieron, demostrando un interés en la propuesta y estimulándonos a continuar generando estos espacios de intercambios académicos/personales. Desde nuestra asociación continuaremos abogando por estas instancias de encuentro, con una mirada federal, que nos posibilite entender más acerca de los fenómenos sanitarios actuales y las diversas formas para continuar mejorando nuestra labor diagnóstica veterinaria.

Les dejo un cordial saludo a todos esperando que esta Jornada sea sumamente provechosa y que a través de este documento logremos condensar las temáticas desarrolladas.



Dr. Sergio Gabriel Garbaccio
Presidente AAVLD

Índice

Resúmenes

Taller de cito-hematología y hemopatógenos en pequeños animales. Interpretación integral de resultados en casos clínicos de laboratorio veterinario / 13

Diagnóstico del virus de diarrea viral bovina y otros agentes virales en casos de aborto bovino, Darío Amilcar Malacari / 14

La fármaco-terapéutica como abordaje transversal para una única salud. Generación de conocimiento desde la salud animal con impacto en salud humana y salud pública, Carlos Edmundo Lanusse / 16

Avances en el diagnóstico del virus de la leucemia felina, Darío Amilcar Malacari / 18

Actualización en métodos complementarios para el diagnóstico de *Neospora caninum* en animales de compañía, Darío Amilcar Malacari / 20

Neosporosis bovina: actualización, diagnóstico e interpretación de resultados, Lucía María Campero / 22

Diagnóstico de brucelosis en ovinos y caprinos producida por *Brucella ovis* y *Brucella melitensis*, Carlos Alejandro Robles / 24

Resultados de seroprevalencia de brucelosis canina en Esquel, Jacinta Ivana Moncá / 26

Vigilancia epidemiológica en animales acuáticos en la cuenca alta del río Limay y embalse Alicurá, Eduardo Roberto Thern y Leonardo Ripoll / 28

Hemoglobinuria bacilar: aspectos del diagnóstico y control, Ariel Alejandro Koval / 30

Resistencia de *Fasciola hepatica* a fasciolicidas, Marcela Larroza / 32

Microbiología en agua de red para consumo humano, Alejandra Villordo / 34

Rabia: su diagnóstico, Laura Patricia Novaro / 35

Fauna silvestre y zoonosis en Patagonia Norte, Sergio Damián Abate / 37

Principales plantas tóxicas para el ganado de la Patagonia, Agustín Martínez / 39

Toxocariosis canina, Gabriela Pérez Tort / 41

Demodicosis canina, Gabriela Pérez Tort / 43

Resúmenes

Taller de cito-hematología y hemopatógenos en pequeños animales

Interpretación integral de resultados en casos clínicos de laboratorio veterinario

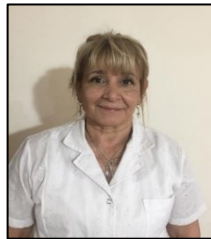
Bariloche, jueves 17 de noviembre de 2022



Dr. Eiras



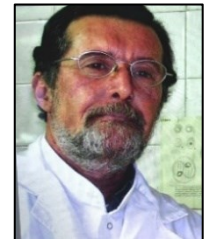
Dra. Maffrand



Dra. Arauz



Dra. Falzoni



Dr. Larotonda



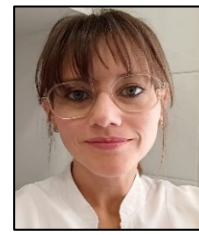
Dr. Combessies



Dra. Vazquez



Dra. Pintos



Dra. Arndt

Comisión Científica de Patología Clínica

A cargo del Programa de Control Interlaboratorio CIAAVLD con matriz veterinaria.
Edición de manuales sobre análisis de laboratorio en pequeños y grandes animales.
Dictado de cursos y talleres sobre análisis clínicos en pequeños y grandes animales.

El taller está destinado a veterinarios laboratoristas y clínicos. Nos focalizaremos en el relato de casos concretos que deriven en trastornos hematológicos observables al microscopio óptico. Utilizaremos durante todo el día un Aula laboratorio equipada con 15 microscopios en las instalaciones del Centro Regional Universitario Bariloche (CRUB). Los casos serán presentados al mismo tiempo que los asistentes miran los extendidos de sangre en el microscopio. Trabajaremos de manera interactiva y con la asistencia de toda la Comisión Científica.

Programa

8.30 a 9.00 h: Acreditación al Taller

9.00 a 13.00 h: Casos clínicos: cito-hematología en pequeños animales

Dra. Carmen Maffrand

9.00 a 11.15 h: Abordaje para la interpretación del eritrograma a partir de casos clínicos

11.15 a 11.30 h: Receso

11.30 a 13.00 h: Interpretación del leucograma partiendo de casos reales

13.00 a 14.00 h: Almuerzo en el Buffet del lugar

14.00 a 18.00 h: Casos clínicos: Hemopatógenos en pequeños animales

Dr. Diego Eiras

Dra. María Victoria Vazquez

14.00 a 14.45 h: Ehrlichia – Hepatozoon

14.45 a 15.30 h: Piroplasmas

15.30 a 16.15 h: Micoplasmas hemotrópicos

16.15 a 16.30 h: Receso

16.30 a 17.15 h: Leishmania – Trypanosoma

17.15 a 18.00 h: Filáridos

Darío Malacari. Méd. Vet., Dr. Cs. Veterinarias.

Trabaja en el área de virología e inmunología animal. Director del Laboratorio Diagnogen.



DIAGNÓSTICO DEL VIRUS DE DIARREA VIRAL BOVINA Y OTROS AGENTES VIRALES EN CASOS DE ABORTO BOVINO

Malacari Darío Amilcar

Laboratorio DIAGNOGEN S.A., Buenos Aires, Argentina.

dmalacari@diagnogen.com.ar

Existen factores como la globalización del comercio, aumentos en el tamaño de los rodeos y el cambio climático que han contribuido a la propagación de patógenos existentes y la introducción de enfermedades en regiones y poblaciones animales que antes estaban libres de ellas. En términos de fertilidad, la capacidad de ciertos virus de causar abortos y malformaciones fetales probablemente ha recibido la mayor atención. El resultado generalmente depende de la etapa de la preñez durante la cual se produce la infección inicial. En este resumen se describen las principales causas virales de aborto bovino teniendo en cuenta al virus de la diarrea viral bovina como el agente viral más frecuentemente aislado en estas afecciones. El virus de la diarrea viral bovina (VDVB) es un agente infeccioso del cual la mayor parte del personal involucrado en la producción pecuaria ha escuchado hablar. Muchos productores han sufrido las consecuencias de tener esta enfermedad en sus rodeos y muchos todavía no saben que tienen a este virus circulando de forma inadvertida. El peor de los escenarios sucede cuando el VDVB circula en un rodeo de forma asintomática. Se estima que el 90 % de las infecciones con el VDVB son asintomáticas, no las vemos. Analizando este primer punto podemos concluir, de forma parcial, que detectar a esta enfermedad mediante un análisis clínico es poco efectivo, no es recomendable. Siempre es aconsejable, en medicina veterinaria, confirmar las sospechas con métodos complementarios, en el caso de la diarrea viral bovina es casi obligatorio el uso del laboratorio de diagnóstico para afirmar que el virus circula entre nuestros animales. El uso de las técnicas diagnósticas para VDVB requiere de un conocimiento y comprensión de la patogenia de la enfermedad. De lo contrario, la interpretación correcta de los resultados es difícil. Por un lado, los diagnósticos de VDVB se realizan por dos razones, la primera razón es para identificar si el virus es la causa o parte de un problema clínico que ha sido identificado. Se dispone de una variedad de ensayos para identificar al virus en sangre o hisopados tomados de animales enfermos o muestras de tejido tomadas en necropsia. Por otro lado, la detección de una respuesta inmune contra el VDVB (nivel de anticuerpos) puede ser útil en situaciones en las que se cuenta con información previa del estado inmunitario de un animal. El segundo uso de los ensayos de diagnóstico de VDVB –y el más importante en un programa de control del virus– es para la identificación de bovinos persistentemente infectados (PI). Mediante la identificación y eliminación de los animales PI, el riesgo de transmisión del VDVB dentro y entre los establecimientos se reduce significativamente. Los animales PI pueden ser identificados mediante la detección de virus en muestras de sangre o de tejido. Al igual que el VDVB, el Herpes virus bovino tipo 4 (HVBo4) puede infectar fácilmente el útero y ha sido asociado con metritis y endometritis; sin embargo, su papel en la fertilidad es algo confuso, ya que a menudo también se ha encontrado en las vacas que no tenían infección uterina. Existe evidencia que el HVBo-4 puede estar asociado con la reducción de fertilidad. Un estudio comparativo demostró que entre vacas que requieren una o dos inseminaciones para quedar preñadas hay una mayor prevalencia de HVBo-4. En casos de aborto, las lesiones del feto abortado pueden incluir inflamación y necrosis del corazón, cerebro, hígado, riñones, bazo, pulmones e intestino. Para una prueba de diagnóstico sensible, la técnica de qPCR puede ser realizada desde muestras de hígado, donde vamos a encontrar una carga viral más representativa. Otro virus que, frecuentemente, causa problemas reproductivos, es el Herpes Virus Bovino-1, que no pertenece a la misma familia que el HVBo-4. Históricamente los subtipos 1.1 y 1.2a del HVBo-1 se han asociado con enfermedades graves, incluida la infección del feto y el aborto, no obstante son subtipos con baja frecuencia de detección en nuestra región. Para la identificación del agente infeccioso se han empleado técnicas, tales como el aislamiento viral, técnicas de detección del antígeno viral que incluye Inmunofluorescencia Directa (IFD) y detección de ácido nucleico como la PCR. Otro agente viral que genera trastornos reproductivos, entre otros, es el virus de la lengua azul que es una importante infección que se genera tanto en rumiantes domésticos como salvajes. Su distribución geográfica depende principalmente de la distribución de los mosquitos *Culicoides*. El virus puede cruzar la placenta y fetos bovinos infectados antes de los 130 días de gestación y desarrollar malformaciones fetales en el sistema nervioso central. Para el diagnóstico de esta infección en rumiantes, la técnica de RT-qPCR es una de las más sensibles; para esto es recomendado el uso de tejido del sistema nervioso central como muestra para realizar la detección. La enfermedad viral reproductiva dominante en nuestros rodeos bovinos es el VDVB, no obstante, las recomendaciones conllevan a incluir a todos estos agentes virales en los diagnósticos

diferenciales de cuadros de trastornos reproductivos en bovinos. Las decisiones de prevención y control como la vacunación y la detección de animales portadores deben ser de alta prioridad en nuestro país para lograr el objetivo de 1 ternero por vaca por año.

Referencias bibliográficas

Newcomer, BW, Walz, PH, Givens, MD. Potential applications for antiviral therapy and prophylaxis in bovine medicine. *Anim Health Res Rev*, 2014;15 (1):102–17.

Ali, H, Ali, AA, Atta, MS, Cepica, A. Common, emerging, vector-borne and infrequent abortogenic virus infections of cattle. *Transbound Emerg Dis*, 2012;59(1):11–25.

Velasova, M., Damaso, A., Prakashbabu, BC., Gibbons, J., Wheelhouse, N., Longbottom, D. et al. Herd-level prevalence of selected endemic infectious diseases of dairy cows in Great Britain. *J Dairy Sci*, 2017;100 (11):9215–33.

Givens, MD, Riddell, KP, Edmondson MA, Walz PH, Gard JA, Zhang Y et al. Epidemiology of prolonged testicular infections with bovine viral diarrhoea virus. *Vet Microbiol.*, 2009;139(1–2):42–51.

Borel, N, Frey, CF, Gottstein, B., Hilbe, M., Pospischil, A., Franzoso, FD et al. Laboratory diagnosis of ruminant abortion in Europe. *Vet J*, 2014; 200:218-29. doi: 10.1016/j.tvjl.2014.03.015.

Frazier, K, Pence, M, Muel, MJ, Liggett, A, Hines, ME II, Sangster, L. et al. Endometritis in postparturient cattle associated with bovine herpesvirus-4 infection: 15 cases. *J Vet Diagn Invest*, 2001;13(6):502-8.

Gür, S., Dog̃an, N. The possible role of bovine herpesvirus type-4 infection in cow infertility. *Anim Sci J*, 2010;81(3):304-8.

Crook, T., Benavides, J., Russell, G., Gilray, J., Maley, M., Willoughby, K. Bovine herpesvirus 1 abortion: current prevalence in the United Kingdom and evidence of hematogenous spread within the fetus in natural cases. *J Vet Diagn Investig*, 2012; 24:662-70. doi: 10.1177/1040638712448187.

Miller, J, Whetstone, C, Maaten, M. Abortifacient property of bovine herpesvirus type 1 isolates that represent three subtypes determined by restriction endonuclease analysis of viral DNA. *Am J Vet Res*, 1991; 52:458-46.

Manual de la OIE, 2004a.

Carpenter, S, Wilson, A, P.S. *Culicoides* and the emergence of bluetongue virus in northern Europe. *Trends Microbiol*, 2009;17(4):172–8.

Osburn, BI. The impact of bluetongue virus on reproduction. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 1994;17(3–4):189-96.

Mulholland, C, McMenamy, MJ, Hoffmann, B, Earley, B, Markey, B, Cassidy, J et al. The development of a real-time reverse transcription-polymerase chain reaction (rRT-PCR) assay using TaqMan technology for the pan detection of bluetongue virus (BTV). *J Virol Methods*, 2017; 245:35–9. doi: 10.1016/j.jviromet.2017.03.009

Carlos Lanusse. Méd. Vet. Dr Cs Vet, Ph D, Dip ECVPT. Es Profesor Titular de Farmacología Veterinaria FCV UNCPBA, Investigador Superior de CONICET y Director Fundador del Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN).



LA FÁRMACO–TERAPÉUTICA COMO ABORDAJE TRANSVERSAL PARA UNA ÚNICA SALUD. GENERACIÓN DE CONOCIMIENTO DESDE LA SALUD ANIMAL CON IMPACTO EN SALUD HUMANA Y SALUD PÚBLICA

Lanusse Carlos Edmundo

Laboratorio de Farmacología, FCV, Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN),
CONICET–UNCPBA–CICPBA, Tandil, Buenos Aires, Argentina.

clanusse@vet.unicen.edu.ar

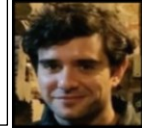
La generación de información científica multidisciplinar, que abarque en forma integrada aspectos moleculares básicos de la relación hospedador–fármaco–parásito junto a investigación aplicada orientada a encontrar pautas de manejo que retarden el desarrollo de resistencia, es el gran desafío en la búsqueda de estrategias que puedan mantener la efectividad del control antihelmíntico en animales de producción. La disponibilidad futura de nuevas moléculas antiparasitarias está comprometida por el aumento progresivo del fenómeno de resistencia y los crecientes costos de investigación y desarrollo. Dado el alto costo y bajo retorno de la investigación/desarrollo de los parasiticidas, se requieren nuevos enfoques en el proceso de descubrimiento de drogas, lo que implica más investigación básica y mayor inversión. El desafío es encontrar estrategias de control que permitan un uso prudente de los fármacos disponibles, que en combinación con control no químico aseguren mantener las poblaciones parasitarias por debajo de un umbral económico. La deficitaria integración entre epidemiología parasitaria, manejo animal y tratamiento, y el incorrecto uso de drogas antihelmínticas debido al desconocimiento de sus propiedades farmacológicas, han sido elementos determinantes en la falla del control parasitario en producción animal. Partiendo de nuestra experiencia científica en fármaco–terapéutica veterinaria hemos realizado un esfuerzo para responder al abordaje transversal que define el paradigma “una salud”, abordando en forma integral aspectos de la salud animal, salud humana, salud pública y salud medioambiental. Un ejemplo de lo mencionado ha sido la relevancia que el conocimiento fármaco–terapéutico generado desde la salud animal ha tenido en la optimización del control de geo–helmintos en medicina humana. Las estrategias de base farmacológica que han sido desarrolladas y validadas en diferentes especies animales, han resultado de notable utilidad para ayudar a mitigar el impacto de los parásitos helmintos en niños que viven en áreas endémicas en diferentes países del mundo. Considerando la relevancia del impacto clínico–sanitario y social que el parasitismo alcanza en las poblaciones más vulnerables del planeta, la búsqueda de herramientas de control químico superadoras a las existentes, se hace indispensable. En ese contexto, el desarrollo de resistencia de diferentes parásitos helmintos a la acción de diversos grupos de sustancias químicas (fármacos antihelmínticos), es una seria amenaza en Medicina Veterinaria y Humana. La aparición de resistencia ha motivado el desarrollo de estudios farmacodinámicos que han contribuido a la comprensión de los mecanismos de acción de los fármacos antihelmínticos más utilizados, incluyendo los benzimidazoles, imidazotiazoles (levamisole) tetrahidropirimidinas (morantel, pirantel) y avermectinas/milbemicinas. Específicamente la resistencia antihelmíntica es una modificación genética, mediada por un incremento en la frecuencia de expresión de un carácter hereditario, que le confiere a ciertos parásitos de una población la capacidad de sobrevivir al efecto farmacológico de dosis terapéuticas recomendadas de una droga, en relación a la población normal (susceptible) de una misma especie. A pesar de los importantes avances alcanzados en la caracterización molecular y genética poblacional de la resistencia de parásitos a la acción de drogas antihelmínticas, tenemos aún muchas dificultades para proponer soluciones concretas, tendientes a frenar el desarrollo del fenómeno de resistencia. La consideración de distintos aspectos epidemiológicos y medidas de manejo acordes al mismo, son también factores relevantes en la prevención de la aparición de resistencia y en la reversión de la ya existente. Conservar la susceptibilidad antihelmíntica en algunas poblaciones parasitarias es de fundamental importancia. Se deben admitir algunas pérdidas de producción debidas a parásitos para lograr el mantenimiento de dicha susceptibilidad. Es necesario desestimular aquellas estrategias que promuevan la reducción de las poblaciones de parásitos en el huésped y en el “refugio” a través de la aplicación sistemática de drogas. En general, la selección para resistencia ocurre con aquellos fármacos que alcanzan concentraciones que matan los parásitos susceptibles, pero permiten que sobrevivan parásitos con genes (heterocigotas u homocigotas) para resistencia. La subdosificación (por debajo de sus niveles de eficacia) dada entre otras causas por el uso de preparaciones farmacéuticas de baja calidad, inadecuado cálculo de peso y/o dosis, etc., favorecen la selección de parásitos resistentes (heterocigotas). Lo ideal sería que dentro de la población parasitaria prevalezcan los homocigotas susceptibles y los heterocigotas, lo cual ayudaría a diluir los genes para resistencia, retardando el desarrollo de resistencia. La eficacia del fármaco depende del tiempo de exposición del organismo blanco a la droga/metabolitos activos. Aumentar la

biodisponibilidad de droga activa es una estrategia farmacológica que coopera en la optimización del tratamiento y en retardar el desarrollo de resistencia. Se han investigado diferentes herramientas farmacológicas que aportan a optimizar la exposición del parásito blanco a una concentración del fármaco activo, tales como la interferencia en el metabolismo y/o eliminación, el manejo de la alimentación (tipo y cantidad de dieta, ayuno pre/post tratamiento) entre muchas otras. Esto retarda el tránsito gastrointestinal, prolongando la duración de la absorción gastrointestinal, y los procesos de eliminación biliar y reciclado entero–hepático de los compuestos antihelmínticos, resultando en un aumento de la biodisponibilidad sistémica de los mismos. Se ha experimentado con éxito sobre el impacto que los sistemas transportadores pueden tener tanto a nivel de los mecanismos de excreción del fármaco en el hospedador como en la interferencia farmacológica para disminuir el eflujo del fármaco del parásito. Algunos resultados de dichas estrategias científicas de modulación del transporte son promisorios dado el incremento que se obtiene en eficacia antihelmíntica frente a cepas de nematodos resistentes, cuando algunas drogas se combinan con agentes moduladores de la actividad transportadora de la proteína transportadora P–gp. La combinación de moléculas con diferente mecanismo de acción, es otra estrategia utilizada con el fin de asegurar la eficacia del tratamiento antiparasitario donde la presencia de cepas resistentes representa un problema. El uso de combinaciones de fármacos podría retardar el desarrollo de resistencia si se dan algunas premisas en la población parasitaria a ser tratada. Pero la valoración de las potenciales interacciones farmacocinéticas y/o farmacodinámicas que pueden ocurrir tras la combinación de diferentes agentes químicos debe ser evaluada profundamente antes de utilizar/recomendar una combinación de fármacos. En esta presentación se discutirán diferentes aspectos farmacológicos que son relevantes para optimizar el uso y extender la vida útil de los fármacos antihelmínticos tradicionales, como así también de aquellas moléculas más nuevas, cuya utilización debiera seguir un patrón de racionalidad que permita considerarlas como herramientas de valor en la estrategia de control nematodocida a mediano/largo plazo tanto en salud animal como humana. Por otro lado, y en el marco de la interacción salud animal–salud humana, el reposicionamiento de fármacos es una estrategia que busca identificar nuevas indicaciones para fármacos ya aprobados con otra finalidad, o sea para tratar condiciones diferentes a las de su propósito original. El tiempo y elevada inversión económica requeridos para el descubrimiento y desarrollo de nuevas moléculas, han motivado el planteo de estrategias de identificación de “viejos fármacos para nuevos usos” en una variedad de campos terapéuticos, muchos de ellos basados en fármacos de uso animal que encuentran su proyección hacia la salud humana. La sorpresiva irrupción de la pandemia por el virus SARS–CoV–2 motorizó un notable esfuerzo para encontrar alternativas de tratamiento a través del reposicionamiento de moléculas existentes. El aporte sobre el reposicionamiento del exitoso fármaco antiparasitario ivermectina para el tratamiento de COVID–19, dejó en evidencia el notable rol que nuestra profesión veterinaria y los centros de investigación disciplinar, tienen en el marco del paradigma del abordaje médico de “una salud”. Aún cuando la aprobación de emergencia temprana hubiera significado asumir el riesgo de no contar con el respaldo de estudios clínicos de envergadura (Fase 3), la aprobación tardía del fármaco ivermectina o la inacción regulatoria pudo haber implicado perder la oportunidad para que una cantidad importante de los efectos deletéreos de la enfermedad se hubieran evitado. La respuesta al dilema planteado aún no se ha obtenido y los caminos divergentes entre la posición de los entes regulatorios, el peso de las corporaciones farmacéuticas y el intento de la ciencia de aportar evidencias clarificadoras, han jugado contra la posibilidad de disponer de una herramienta de utilidad para ayudar a paliar los efectos devastadores de la pandemia, aun cuando existe un importante cuerpo de evidencia científica disponible en la literatura que corrobora el efecto favorable de la ivermectina sobre esta y otras enfermedades virales, incluyendo las producidas por varios virus de importancia patogénica en salud animal. En conclusión, basados en la relevancia del abordaje integral de la *salud* como *única salud* que engloba el campo animal, humano y medioambiental, todos los estamentos debemos buscar estrategias que permitan profundizar el trabajo integrado. Las profesiones biomédicas en su conjunto deben dejar de lado prejuicios de incumbencias profesionales con visiones de corto alcance y estimular la búsqueda de acciones conjuntas con el paradigma “una salud” como estandarte. Se requieren acciones integradas superadoras donde los diferentes campos profesionales, la academia, los entes regulatorios y la industria farmacéutica puedan abordar los desafíos en forma conjunta. Considerando que el notable crecimiento de la resistencia bacteriana y parasitaria en salud humana y animal nos interpela seriamente, el camino hacia la integración disciplinar parece la única salida. Lo antedicho será también crucial para la exploración integrada del “nuevo mundo” que significa investigar el reposicionamiento de fármacos para el futuro de la terapéutica animal y humana.

Referencias bibliográficas

- Lanusse, C. et al. Basic and clinical pharmacology contribution to extend anthelmintic molecules lifespan. *Veterinary Parasitology*, 2015; 212: 35–46.
- Lanusse, C. et al. Strategies to optimize the efficacy of anthelmintic drugs in ruminants. *Trends in Parasitology*, 2018; 34: 664–682.
- Lifschitz A. et al. Reposicionamiento de ivermectina frente a COVID–19: evidencias científicas que avalan su potencial preventivo y terapéutico. *FAVE Special issue: 'Veterinary Sciences and COVID–19 – One Health approach in action'*, 20 (2021) Suppl. 9–19.

Darío Malacari. Méd. Vet., Dr. Cs. Veterinarias. Trabaja en el área de virología e inmunología animal. Director del Laboratorio Diagnogen.



AVANCES EN EL DIAGNÓSTICO DEL VIRUS DE LA LEUCEMIA FELINA

Malacari Darío Amilcar
Laboratorio DIAGNOGEN S.A., Buenos Aires, Argentina.
dmalacari@diagnogen.com.ar

Existen más de 600 mil millones de felinos domésticos a nivel mundial, mientras que en Argentina se estima que al menos el 80 % de la población tiene un animal de compañía y el 30 % corresponde a gatos de diversas razas. Los primeros reportes de casos relacionados con retrovirus felinos en Argentina se remontan a 1996 mientras que una de las primeras publicaciones detalladas que describen la situación de Leucemia Felina (LFel) surge de la Universidad de Buenos Aires, aportando datos clínicos y virológicos sobre el Virus de la Leucemia Felina (ViLeF). La LFel es considerada la principal causa de muerte en felinos domésticos y responsable de un diverso abanico de signología clínica. Ciertos signos clínicos son asociados con afecciones en el sistema inmunológico causado por el efecto supresor del virus, afectando principalmente el linaje celular de linfocitos y macrófagos. Por otro lado, aproximadamente un tercio de las muertes causadas por neoplasias en felinos domésticos están relacionadas con el ViLeF. Los mecanismos de oncogénesis inducidos por este virus ocurren por integración proviral cerca de un proto-oncogen celular, del cual se altera su función reguladora del ciclo celular. Al haber linfocitos neoplásicos, pueden aparecer linfomas o leucemias. Han sido utilizados diversos métodos para el diagnóstico de LFel como la inmunofluorescencia y el aislamiento viral. A su vez, la detección de antígenos en sangre del ViLeF también es posible y en los últimos años se ha introducido de forma masiva el uso de los test de inmunocromatografía. Hace varios años se ha descrito la utilización de la técnica de PCR en tiempo real, para la cuantificación de ADN proviral en felinos infectados. Generalmente, la carga de virus o provirus en sangre de animales infectados con el ViLeF son asociadas con el estadio de la infección: felinos con infección progresiva son caracterizados con altas cargas tanto de virus y provirus en sangre; y gatos con infección regresiva e indetectable o antigenemia transiente presentan cargas bajas a moderadas tanto virales como provirales en sangre. La complejidad en la patogenia del ViLeF (fase progresiva con viremia persistente y de mal pronóstico, o regresiva sin viremia y con latencia en médula ósea) determina la dificultad diagnóstica. Es importante entender que el diagnóstico de LFel puede ser complicado si no se tienen varios factores en cuenta. La caracterización del estatus en el que se encuentra el animal infectado es de suma importancia para que el médico veterinario seleccione el mejor y más adecuado manejo de cada caso. Uno de los desafíos es poder diagnosticar con precisión si un paciente se encuentra en un estadio de infección regresivo o progresivo. El escaso conocimiento de la infección, de su correcto diagnóstico y de su tratamiento, ha llevado a errores en el manejo de los pacientes felinos con pruebas positivas para ViLeF, incluso en algunos criaderos se recomienda la eutanasia como la "única" alternativa ante una posible infección en un gato. El entendimiento de los diferentes estadios clínicos y de las medidas de prevención y tratamiento, pueden lograr que un gato positivo a ViLeF tenga una mejor calidad de vida y, con un buen plan de manejo, no sea un riesgo de infección para los demás gatos con los que pueda convivir. Para ello se han descrito varios algoritmos implicados en esta clasificación y siempre resurge la importancia de la buena utilización de las técnicas de diagnóstico y la correcta interpretación de los resultados. La utilización de la técnica de qPCR para la cuantificación de carga proviral de felinos infectados con ViLeF ha sido descrita con anterioridad, a su vez, esta misma ha sido tomada por varios laboratorios para desarrollar kits para este mismo propósito. Estas técnicas permiten determinar en qué instancia se encuentran los felinos infectados utilizando/o a través de la cuantificación de carga proviral mediante la utilización de qPCR. Una de las principales desventajas para el uso de estos kits es su elevado costo.

Referencias bibliográficas

Driscoll, CAM, DW; O'Brien, SJ. From wild animals to domestic pets, an evolutionary view of domestication. Proc Natl Acad Sci, 2009;106:9971-9978.

Galdo Novo, S, Bucafusco, D, Diaz, LM *et al.* Viral diagnostic criteria for feline immunodeficiency virus and feline leukemia virus infections in domestic cats from Buenos Aires, Argentina. Revista Argentina de Microbiología, 2016; 48:293-297.

Hardy, WD Jr, ZE. Ten-year study comparing enzyme-linked immunosorbent assay with the immunofluorescent antibody test for detection of feline leukemia virus infection in cats. J Am Vet Med Assoc. 1991;199(10):1365-73.

- Hartmann, K & Levy, JK. Feline Leukemia Virus infection. In SJ Ettinger, EC Feldman & E Coté (eds.). Textbook of Veterinary Internal Medicine (8th ed.) St. Louis, Missouri: Elsevier, 2017:2442-2455.
- Jackson L, HM, Taylor, F. Feline leukemia virus detection by ELISA and PCR in peripheral blood from 68 cats with high, moderate, or low suspicion of having FeLV-related disease. J Vet Diagn Invest, 1996; 8:25-30.
- Jarrett, O. Strategies of retrovirus survival in the cat. Vet Microbiol, 1999; 69:99-107.
- Levy, J, J Richards, D Edwards, T Elston, K Hartmann, I Rodan, V Thayer, M Tompkins, A. Wolf Report of the American Association of Feline Practitioners and Academy of Feline Medicine Advisory Panel on feline retrovirus testing and management. J Feline Med Surg, 2003; 5:3-10.
- Lynn SR, PR, Jen W-CH, Roy-Burman P. Recombinant Feline Leukemia Virus Genes detected in Naturally occurring Feline Lymphosarcomas. Journal of Virology, 1993:3118-3124.
- Lutz, H, Pedersen, NC and Theilen, GH, The course of feline leukemia virus infection and its detection by ELISA and monoclonal antibodies. Am J Vet Res, 1983; 44:2054-2059.
- MacLachlan, NJ & Dubovi, EJ (2017). *Fenner's Veterinary Virology* (5th ed.) Cambridge, USA: Academic Press Elsevier, 2017:269-297.
- Norris, JM et al. Prevalence of feline immunodeficiency virus infection in domesticated and feral cats in eastern Australia. J Feline Med Surg, 2007; 9(4):300-308.
- Oswald, J. Strategies of retrovirus survival in the cat. Vet Microbiol, 1999; 69:99-107.
- Paulin, MV et al. Feline Low-Grade Alimentary Lymphoma: An Emerging Entity and A Potential Animal Model for Human Disease. BMC Veterinary Research, 2018;14(1):306.
- Pecoraro, MR, Tomonaga, K., Miyazawa, T., Kawaguchi, Y., Sugita, S., Tohya, Y., Kai, C., Etcheverrigaray, ME, Mikami, T. Genetic diversity of Argentine isolates of *Feline immunodeficiency virus*. J Gen Virol. 1996; 77:2031-2035.
- Torres, AN, Mathiason, CK, Hoover, EA. Re-examination of feline leukemia virus: host relationships using real-time PCR. *Virology*. 2005; 332(1):272-283.
- Updates in the diagnosis and management of feline leukemia virus (FeLV). IDEXX, 2019. <https://www.idexx.com/files/updates-diagnosis-management-felv.pdf>
- Villiers, E. Disorders of Erythrocytes. In E. Villiers & J. Ristic (eds.). *BSAVA Manual of Canine and Feline Clinical Pathology* (third ed.) Aberystwyth, United Kingdom: BSAVA, 2016:38-66.

Darío Malacari. Méd. Vet., Dr. Cs. Veterinarias.

Trabaja en el área de virología e inmunología animal. Director del Laboratorio Diagnogen.



ACTUALIZACIÓN EN MÉTODOS COMPLEMENTARIOS PARA EL DIAGNÓSTICO DE *NEOSPORA CANINUM* EN ANIMALES DE COMPAÑÍA

Malacari Darío Amilcar

Laboratorio DIAGNOGEN S.A., Buenos Aires, Argentina.

dmalacari@diagnogen.com.ar

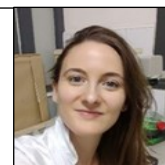
Dentro de las nuevas problemáticas de la salud animal se destacan las enfermedades causadas por la *Neospora caninum*, responsable de enfermedades neuromusculares en caninos y abortos en el ganado bovino. Hay que tener en cuenta que las mascotas caninas representan una fuente potencial de agentes infecciosos patógenos, incluyendo los de tipo parasitario, especialmente cuando se combinan con factores ecológicos, conductas y hábitos humanos inapropiados. Existen factores que predisponen a la presencia de enfermedades. Estos muchas veces coinciden con el contacto de perros con ambientes rurales, teniendo diversidad de alimentación con incidencia de consumo alto de carne cruda incluyendo vísceras que aumentan significativamente la posibilidad de infección. La alimentación con dietas basadas en carne cruda (RMBD, por sus siglas en inglés) para gatos y especialmente en perros tiene un número creciente de seguidores. Un argumento utilizado con frecuencia por sus defensores es la similitud de esta dieta con la de sus ancestros, como lobos y gatos salvajes, y es más saludable que el alimento procesado o comúnmente llamado “alimento balanceado”. Por lo tanto, muchos tutores de mascotas podrían subestimar el peligro de la transmisión de patógenos a través de RMBD ya que la carne cruda puede ser una importante fuente de parásitos, bacterias y virus. *N. caninum* se incluye dentro del phylum Apicomplexa, clase Sporozoea, subclase Coccidia, orden Eucoccidia, suborden Eimeriina y familia Sarcocystidae, junto con los géneros *Toxoplasma*, *Sarcocystis*, *Hammondia* y *Besnoitia*. El ciclo biológico comienza cuando el perro elimina en sus heces a los ooquistes. Los signos en perros menores a seis meses de edad incluyen, rigidez de las extremidades pélvicas, parálisis que se caracteriza por la atrofia muscular progresiva, progresando a la rigidez de todas las extremidades. En perros más viejos, es más probable que el sistema nervioso central esté involucrado, dando lugar a signos como convulsiones, temblores y cambios de comportamiento. Si sucede una paralización de los músculos de la respiración conlleva a la muerte. Este parásito tiene un ciclo de vida, que incluye al perro como hospedador definitivo, ya que en las heces de esta especie se han encontrado los ooquistes. Sin embargo, el perro también puede ser hospedador intermediario, al igual que los bovinos, equinos y caprinos, y también animales silvestres como los coyotes, zorros y ciervos. Experimentalmente se puede llegar a infectar a felinos, ratas, cerdos y monos. En todas las especies animales anteriormente mencionadas, la infección natural ocurre por el consumo de ooquistes esporulados, los que contaminan los alimentos y las aguas, generando, en el hospedador intermediario, intracelularmente las otras dos formas del parásito, los taquizoitos y los quistes tisulares o bradizoitos. Este protozoo tiene una predilección por tejido del sistema nervioso central, incluida la retina. La infestación en el perro ocurre por el consumo de bradizoitos y taquizoitos, contenidos en los tejidos de los hospedadores intermediarios. Los ooquistes son eliminados sin esporular y en el medio externo, al cabo de 24 horas si las condiciones son favorables, esporulan. Para completar el ciclo, los ooquistes deben ser ingeridos por los hospedadores intermediarios. El diagnóstico se puede lograr con Inmunofluorescencia indirecta (IFI) o ELISA. Estas técnicas son altamente sensibles y específicas. Sin embargo, la interpretación de los resultados no puede estar fuera del contexto clínico, ya que muchos perros clínicamente sanos resultan seropositivos. En el caso de la presentación cutánea, la neosporosis, es diagnosticada a través del aislamiento de los taquizoitos mediante biopsias de piel o detectadas mediante técnicas moleculares. El diagnóstico diferencial con *Toxoplasma gondii* se logra con pruebas como Inmunohistoquímica o qPCR de las biopsias de la piel. El diagnóstico bioquímico también es una herramienta importante, ya que en presencia de la enfermedad arrojará un aumento de las enzimas séricas asociadas a la necrosis de miocitos y daño hepático. El examen coprológico es poco confiable ya que los ooquistes nunca han sido observados en infecciones sistémicas activas. El examen histológico de una biopsia muscular también puede revelar la presencia de taquizoitos, relacionada a lesiones necróticas y de mineralización. Para identificar quistes se requiere realizar un examen histológico cuando el animal este muerto porque los quistes se encuentran en muestras de encéfalo y medula espinal. Debido a que la identificación de *Neospora caninum* en tejidos y líquido cefalorraquídeo (LCR) es difícil, se puede hacer un diagnóstico presuntivo de neosporosis combinando los signos clínicos apropiados de esta enfermedad con serología positiva o presencia de anticuerpos en LCR, excluyendo otras etiologías, que inducen síndromes clínicos similares, en particular

Toxoplasma gondii. En ciertas ocasiones los métodos serológicos pueden resultar en falsos negativos en los perros; en un estudio con 28 perros PCR positivos, solo 9 fueron seropositivos para *N. caninum*, lo que indica que la serología puede ser negativa incluso si el organismo está presente en el huésped. La determinación de la avidéz (afinidad funcional) de los anticuerpos IgG específicos se utiliza para diagnosticar *T. gondii* en humanos y para diferenciar las infecciones primarias de las secundarias. Los ensayos de avidéz se basan en el hecho de que los primeros anticuerpos sintetizados después de un desafío antigénico o una infección primaria tienen una menor afinidad por el antígeno que los producidos más tarde. Para los ensayos de IFI, se busca la reacción del suero mediante el cultivo celular de *N. caninum* y por lo general, los valores de 1:50 o más se consideran positivos. La técnica de IFI nos permite la determinación de la etapa aguda, caracterizada por altos niveles de IgM de la segunda a la cuarta semana de infección y de la crónica, con la caída de IgM y el aumento de la IgG. Después de 6 meses de infección primaria, se muestran altos niveles de anticuerpos IgG. Según varios autores, las técnicas más comunes para diagnosticar *N. caninum* son las que detectan específicamente anticuerpos del suero, no obstante, como lo hemos mencionado con anterioridad, la interpretación de los resultados no puede estar fuera del contexto clínico, ya que muchos perros clínicamente sanos resultan seropositivos.

Referencias bibliográficas

- Piaggio, J, Delucchi, L, Bañales, P, Easton, C. Actualización en Neosporosis. 2007. Montevideo, Uruguay.
- Morey, D. The early evolution of the domestic dog. *American Scientist*, 2014; 82:336-347.
- Ellis, J, Luton, K, Baverstock, PR, Brindley, PJ, Nimmo, KA, Johnson, AM. The phylogeny of *Neospora caninum*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 1994; 64:303-311.
- Aycachi, R. *Neospora caninum* parasitología. 2009; 23(2):13-16.
- Santana, O et al. *Neospora caninum*: Detección de ADN en sangre durante la primera gestación de vaquillas infectadas naturalmente. *Veterinaria México*, 2010; 41(2).
- McAllister et al. Ciclo evolutivo *Neospora caninum*. 1998; 44:35-37.
- Dubey, JP. Neosporosis in cattle: biology and economic impact. *JAVMA*, 1999; 214(8):1160-1163.
- Lindsay, DS. A review of *Neospora caninum* and Neosporosis. *Veterinary Parasitology*, 1999; 67:1-59.
- Fredes, F. Neosporosis. Chile, Santiago de Chile. 2002:44- 52.
- Guillot, J, Escriou, C, Fritz, D. Neosporosis canina. *Le point Vétérinaire*, 2000; 208:29-35.
- Ghalmi, F, China, B, Kaidi, R et al. Detection of *Neospora caninum* in dog organs using real time PCR systems. *Veterinary Parasitology*, 2008; 155:161-167.
- Hedman, K, Lappalainen, M, Seppä 'ia 'l, Ma 'kela " O: Recent primary *Toxoplasma* infection indicated by low avidity of specific IgG. *J Infect Dis*, 1989; 159:736-740.
- Köller, P, Schmidt, M. Raw-meat-based diets (RMBD) as a feeding principle for dogs. *Tierarztl Prax Ausg K Kleintiere Heimtiere*, 2015; 43:409-19.
- Dubey, JP; Lappin, MR (2008). *Toxoplasmosis y neosporosis*. Pp 843- 850. En: *Enfermedades infecciosas del perro y el gato*. Tercera Edición. Volumen 2. Greene, C. E. Editorial Inter-Médica. Buenos Aires, Argentina.
- Alves Sinnot, F, García Monte, L, Farias Collares, T, Maraninchi Silveira, R, Borsuk, S. Review on the immunological and molecular diagnosis of neosporosis (years 2011–2016). *Veterinary Parasitology*, 2017; 239:19-25.

Lucía Campero. Lic. en Biología, Dra. Cs. Vet. Investigadora Asistente de CONICET. Integrante de Comisión Científica de Enfermedades Venéreas y Neosporosis de la AAVLD.



NEOSPOROSIS BOVINA: ACTUALIZACIÓN, DIAGNÓSTICO E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Campero Lucía María

CONICET. Instituto de Innovación para la Producción Agropecuaria y el Desarrollo Sostenible, IPADS
Balcarce, INTA-CONICET. Balcarce, Buenos Aires.

campero.lucia@inta.gob.ar

Neospora caninum es un protozoo apicomplexa que afecta al perro pudiendo generar signos neuromusculares y al ganado vacuno causando el aborto, principalmente entre el 5^{to}-7^{mo} mes de gestación. El bovino actúa como un hospedador intermediario por excelencia, siendo *N. caninum* uno de los microorganismos con mayor eficiencia de transmisión transplacentaria, con tasas de hasta 95 %. Distintos escenarios que pueden darse en una hembra bovina preñada infectada: aborto, nacimiento de un ternero asintomático pero congénitamente infectado y en menor proporción, terneros con signos neurológicos. La permanencia de crías clínicamente sanas pero congénitamente infectadas implica un riesgo ya que poseen mayor probabilidad de abortar o facilitar la persistencia de la enfermedad en el rodeo. Cantón *et al.* (2022) evaluaron la casuística del Servicio Diagnóstico Veterinario Especializado (SDVE) del INTA Balcarce, a partir de 1163 fetos abortados (1994-2019) procesados de la provincia de Buenos Aires. Los autores concluyeron que neosporosis es la primera causa de aborto de origen infeccioso en ganado lechero (17,3 %) y la segunda en ganado para carne (7 %), ocasionando pérdidas económicas de 11 y 10 millones de dólares, respectivamente. A pesar de que la neosporosis tiene impacto en la industria ganadera generando grandes pérdidas económicas, aún no existen tratamientos quimioterapéuticos ni vacunas capaces de evitar el aborto y/o transmisión transplacentaria. Las medidas de control se sustentan en interrumpir el ciclo parasitario, ya sea en su transmisión horizontal como vertical, previo a ello se debiera conocer cuál es la principal vía de transmisión (vertical u horizontal) que predomina en el rodeo en cuestión. La serología es una técnica fundamental que evidencia la exposición parasitaria mediante la detección de anticuerpos específicos. Complementariamente, es posible diferenciar infecciones agudas de crónicas mediante la medición de la avidéz (afinidad funcional) de los anticuerpos, siendo ésta baja en infecciones recientes y progresivamente al evolucionar la respuesta inmune, los valores de avidéz aumentan en infecciones crónicas. Para tal fin, existen ELISAs de avidéz que aportan valiosa información epidemiológica. También existen desarrollos de *tests* diagnósticos locales descritos como ELISAs indirecto prueba inmunoenzimática en línea (*applied printing immunoassay* -APIA-); y más recientemente, un ELISA de competición aunque desafortunadamente no están disponibles comercialmente. Recientemente se describió una prueba intradérmica de hipersensibilidad retardada para *N. caninum*, midiendo la respuesta inmune celular en vaquillonas experimentalmente infectadas con niveles de anticuerpos no detectables. Las pruebas serológicas más difundidas en Argentina son la Inmunofluorescencia indirecta (IFI) y el ELISA indirecto. La técnica de ELISA es más práctica para el diagnóstico de neosporosis bovina por su automatización y lectura objetiva de los resultados. Un trabajo inter-laboratorial en anillo realizado entre laboratorios de referencia en el diagnóstico de neosporosis bovina de Argentina, Brasil, Perú, México y España, reportó gran variabilidad entre las pruebas serológicas evaluadas (IFI y ELISAs *in-house* y comercial), sugiriendo que la implementación de un *test* comercial podría contribuir a armonizar el diagnóstico y optimizar estrategias de control. No obstante, la participación periódica en programas de control diseñados con serotecas de referencia y la constante capacitación del personal técnico responsable de la ejecución y lectura de pruebas diagnósticas son fundamentales para asegurar un resultado confiable. Cuando un establecimiento registra episodios de aborto y sospecha de neosporosis como principal causa de aborto se debiera proceder al sangrado no sólo de las vacas que abortaron sino también de compañeras gestantes. Un resultado individual positivo de una vaca que abortó no implica que *N. caninum* sea la causa del aborto. Vacas seropositivas pueden tener cría al pie sana pero ser congénitamente infectada. La evaluación e interpretación de la serología de animales abortados y compañeras preñadas aporta evidencia que justificaría o no la implementación de medidas de control, en caso de existir asociación estadística entre seropositividad y aborto. La implementación de medidas de control dependerá de la prevalencia de la enfermedad en el rodeo y de los valores productivos y económicos, siempre evaluando la relación costo/beneficio. Debido a la ausencia de un *test* de referencia (*gold standard*) para neosporosis y las escasas posibilidades de un aislamiento exitoso, el diagnóstico de *N. caninum* como agente causal de aborto implica la aplicación de una batería de pruebas diagnósticas (histopatología, PCR y serología) y una visión integrada de sus resultados para lograr una correcta interpretación de la relación causa-efecto. De manera aislada, ninguna de las 3 pruebas mencionadas resulta concluyente respecto al rol de *N. caninum*

en el aborto. Asimismo, se debiera abordar el diagnóstico con conocimiento de la enfermedad (inmunopatogenia, respuesta del hospedador y comportamiento biológico parasitario) y de los fundamentos y características operativas de las pruebas diagnósticas aplicadas. Sólo así es posible brindar un resultado confiable y transferible a la resolución del problema que presenta un establecimiento. La detección molecular de ADN de *N. caninum* en fetos abortados por PCR indica transmisión transplacentaria exitosa, aunque no necesariamente asociada a la presentación de abortos. El cerebro (refrigerado o congelado) es la muestra de elección para el diagnóstico molecular de *N. caninum* ya que posee mayor probabilidad de hallar ADN parasitario al tratarse del órgano diana donde se aloja este protozoo. En coincidencia, Collantes *et al.* (2006) demostraron 100 % de detección de ADN de *N. caninum* en cerebros de fetos bovinos abortados en el primer, segundo y último tercio de gestación mediante cuantificación de carga parasitaria y evaluación histopatológica de múltiples tejidos (cerebro, pulmón, corazón, hígado, riñón, diafragma, bazo, timo, glándulas adrenales y linfonódulos). Existen distintos tipos de PCR: a punto final (PCR convencional) o en tiempo real (qPCR), amplificando regiones que usan como target fracciones conservadas de genes de ADN ribosómico (18S rDNA, 28S rDNA) y regiones espaciadoras (ITS1) o el gen multicopia pNc5. Dado que la autólisis fetal afecta la sensibilidad de la PCR, es preferible utilizar fragmentos cortos de ADN como target. La elección de una u otra PCR dependerá del equipamiento, acceso a insumos y/o experiencia del laboratorio diagnóstico. Se debe tener en cuenta que la sensibilidad y especificidad de la PCR depende de la calidad y cantidad de ADN extraído, existiendo en el mercado una multiplicidad de kits comerciales para la extracción de ADN. Recientemente se reportó parasitemia en células mononucleares de sangre periférica en 22 % de vacas preñadas crónicamente infectadas de rodeos de cría en el último tercio de gestación mediante qPCR y análisis multilocus de microsatélites. Conocer el momento en que ocurre la parasitemia podría tener implicancias diagnósticas y terapéuticas relevantes, sin embargo, se requiere profundizar estos hallazgos. Las lesiones compatibles con *N. caninum* más frecuentemente halladas en tejidos de fetos abortados son: encefalitis focal no supurativa, hepatitis, miositis, necrosis focal y placentitis no supurativa. La histopatología continúa siendo una herramienta fundamental a la hora de definir si el aborto fue causado por *N. caninum*, indicando un desequilibrio en la relación parásito-hospedador. El diagnóstico histopatológico puede complementarse con la Inmunohistoquímica (IHQ), sin embargo, debido a su baja sensibilidad, su aplicación en la rutina diagnóstica es limitada. Se recomienda la IFI para evaluar la presencia de anticuerpos específicos a partir de líquido de cavidades de fetos abortados. La estructura de la placenta del bovino impide el pasaje de inmunoglobulinas maternas, por lo que un resultado positivo indica exposición fetal a *N. caninum*. No obstante, un resultado negativo no descarta la infección. Debido a que la inmunocompetencia fetal comienza a desarrollarse a partir del 4º mes de gestación si la infección por *N. caninum* ocurre previa a los 120 días de gestación, sería esperable no detectar anticuerpos. Además, se debe considerar el tiempo transcurrido entre la infección y el aborto, pudiendo ser inferior al necesario para la producción de anticuerpos. Finalmente, la autólisis proporcional al tiempo transcurrido entre el aborto y la obtención de la muestra podría afectar la concentración las inmunoglobulinas fetales. Por ello, se sugiere utilizar un punto de corte bajo para la IFI, con el fin de maximizar la sensibilidad diagnóstica. También se ha reportado que el uso del *Immunoblot* como una prueba más sensible para la serología fetal aunque su aplicación no ha sido difundida en nuestro medio. Pese a la continua generación de conocimientos mientras no exista una vacuna disponible comercialmente, el diagnóstico continúa siendo la única herramienta fundamental para el control de la neosporosis.

Referencias bibliográficas

- Campero LM *et al.* An Ibero-American inter-laboratory trial to evaluate serological tests for the detection of anti-Neospora caninum antibodies in cattle. *Trop Anim Health Prod.* 2018;50:75-84. doi:10.1007/s11250-017-1401-x.
- Cantón GJ, *et al.* Spatial-temporal trends and economic losses associated with bovine abortifacients in central Argentina. *Trop Anim Health Prod.* 2022;54:242. doi:10.1007/s11250-022-03237-0.
- Collantes-Fernández E *et al.* Influence of the stage of pregnancy on Neospora caninum distribution, parasite loads and lesions in aborted bovine foetuses. *Theriogenology.* 2006;65:629-641. doi:10.1016/j.theriogenology.2005.06.003.
- Dubey JP *et al.* Neosporosis in Animals. 2017. 1º Ed. Boca Raton, CRC Press.
- Echaide I *et al.* Neosporosis bovina: análisis seroepidemiológico de un hato lechero mediante IFA y ELISA (P1). 2002. XIV Reunión Científica Técnica de la AAVLD. Villa Gral. Belgrano, Argentina.
- Fiorani F *et al.* Delayed-type hypersensitivity skin test against Neospora caninum in heifers with undetectable specific antibodies. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2020;72:101522. doi:10.1016/j.cimid.2020.101522.
- Gual I *et al.* Parasitemia and Associated Immune Response in Pregnant and Non-Pregnant Beef Cows Naturally Infected With Neospora caninum. *Front Vet Sci.* 2022;9:905271. doi:10.3389/fvets.2022.905271.
- Mansilla FC *et al.* Development and validation of a novel ELISA for the detection of Neospora caninum antibodies in bovine sera. *J Vet Sci Ani Husb.* 2019;7:1-10.
- Novoa MB *et al.* Evaluation of a competitive inhibition ELISA based on the recombinant protein tSAG1 to detect anti-Neospora caninum antibodies in cattle. *J Vet Diagn Invest.* 2020;32:401-8. doi: 10.1177/1040638720916711.
- Wilkowsky SE *et al.* An applied printing immunoassay with recombinant Nc-SAG1 for detection of antibodies to Neospora caninum in cattle. *J Vet Diagn Invest.* 2011;23:971-976. doi:10.1177/1040638711416845.

Carlos Robles. Méd. Vet. M Sc. Es Consultor de Enfermedades de
Pequeños Rumiantes e Investigador Asociado de INTA.



DIAGNÓSTICO DE BRUCELOSIS EN OVINOS Y CAPRINOS PRODUCIDA POR *Brucella ovis* y *Brucella melitensis*

Robles Carlos Alejandro
Consultor Enfermedades de Pequeños Rumiantes – Investigador Asociado de INTA
Bariloche, Provincia de Río Negro, ARGENTINA
roblesbari@gmail.com

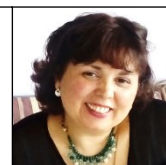
La brucelosis de los ovinos y caprinos en Argentina es producida por *Brucella melitensis* biovar 1 y se caracteriza por la presentación de abortos y nacimiento de corderos y cabritos débiles que mueren en el periparto. Por otro lado, la epididimitis contagiosa del carnero producida por *Brucella ovis* genera infertilidad en los machos, a partir de una inflamación de las vesículas seminales y epididimitis uni o bilateral, entre otras. Mientras que la infección por *B. melitensis* es una importante zoonosis, sobre todo en las familias de pequeños productores o emprendimientos familiares rurales, *B. ovis*, solo afecta al ovino, no constituyendo una zoonosis. Ambas enfermedades están ampliamente distribuidas en el país. En el caso de *B. melitensis*, la enfermedad está concentrada en 3 conglomerados geográficamente bien definidos, con alta prevalencia serológica, denominados Centro Norte (este de Salta, noroeste de Chaco y centro oeste de Formosa), Noa Sur (La Rioja y Catamarca) y Cuyo (Mendoza y sur de San Juan). Estas tres regiones involucran a 7 provincias y 80 departamentos. Las provincias que integran la región Patagónica, más el departamento de Carmen de Patagones de la provincia de Buenos Aires, fueron declarados libres de *B. melitensis* en 2017 por el Senasa. En el caso de *B. ovis*, la mayor distribución y prevalencias se observan en la Región Patagónica, Pampa húmeda y Mesopotamia. En un trabajo realizado por profesionales del INTA, EEA Bariloche, donde se analizaron 181 495 muestras entre los años 1995 y 2010, de las 5 provincias patagónicas, se determinó un 66.2 % de establecimientos infectados y una prevalencia promedio a nivel animal del 5.8 %. En la Pampa húmeda, Spath y col. (2002) analizaron 2652 muestras de sangre, provenientes de 36 establecimientos ubicados en diferentes partidos de la provincia de Buenos Aires. En el 73 % de los establecimientos y en 13 de los 15 partidos provinciales estudiados, se detectaron reactores, con prevalencias que variaron entre 2.9 % a 38.5 %. En la Región Mesopotámica en un primer estudio realizado por Draghi y col. (1984), procesaron sueros de 1096 carneros arrojando un 16.2 % de sueros positivos. Posteriormente sobre 7323 sueros de carneros recolectados en 5 departamentos de la provincia de Corrientes el 8.2 % de los mismos resultaron positivos con un rango a nivel departamental de 4.07 % a 34.84 %. El diagnóstico clínico de estas enfermedades, siempre es presuntivo ya que hay otros agentes que producen tanto aborto como epididimitis, por lo cual siempre hay que proceder a la toma de muestras para intentar arribar a un diagnóstico definitivo. Para la detección del agente causal se cuenta con técnicas de bacteriología tradicional como con técnicas de biología molecular que detectan el ADN de ambos agentes. El cultivo de ambas especies del género *Brucella* se puede realizar sobre medios basales como agar brucella, agar sangre o agar Columbia adicionados de sangre, suero o hemoglobina, pero muchas veces los resultados no son buenos debido al crecimiento lento de *B. melitensis* y *B. ovis* que son superadas por otros patógenos o contaminantes. Para superar esta dificultad se han diseñado medios selectivos de cultivo como son el medio de Farrell o el medio CITA para el cultivo de *B. melitensis* y el medio de Thayer Martin para el cultivo de *B. ovis*. Estos medios selectivos están conformados por un medio base, adicionado de suero o sangre y de diferentes mezclas de antibióticos que permiten desarrollar *Brucella spp.*, pero inhiben a la mayoría de los contaminantes. En el caso de *B. ovis*, recordar que los cultivos deben incubarse en una atmósfera enriquecida con un 20 % de dióxido de carbono. Las técnicas de biología molecular como la PCR de punto final o la PCR en tiempo real, han agilizado mucho la confirmación de casos de brucelosis, ya que a partir de las mismas muestras que son requeridas para el cultivo bacteriológico se puede intentar detectar el ADN de *Brucella spp.* en dichas muestras. Si bien no reemplazan al aislamiento de *Brucella spp.* por los métodos tradicionales, tienen la ventaja de que el resultado se puede obtener en el lapso de 24 horas de procesada la muestra. Estas mismas técnicas, pueden ser utilizadas para identificar una cepa aislada, ya sea en su formato de tipo "simple", que identifican una única especie como las de tipo "multiplex" que pueden identificar y diferenciar varias cepas a la vez, incluidas las cepas vacunales. Sin embargo, tanto el cultivo como la PCR no son de utilidad práctica para las campañas de control y erradicación de ambas enfermedades, por lo que la detección de anticuerpos en sangre sigue siendo la metodología de elección.

Debido a que la conformación de la membrana externa de *B. melitensis* y *B. ovis* es diferente, sobre todo en lo que hace a la conformación del lipopolisacárido, ello ocasiona que se clasifique a *B. melitensis* como “lisa” y a *B. ovis* como “rugosa”. Esto determina que las pruebas serológicas desarrolladas para las especies lisas no son aplicables a las especies rugosas, sobre todo las pruebas basadas en aglutinación. Para *B. melitensis* entonces se cuenta con una variedad muy amplia de técnicas como la fijación del complemento (FC), aglutinación en placa con Rosa de Bengala o antígeno bufferado, pruebas de aglutinación en tubo y con 2-Mercaptoetanol, ELISAs indirecto y de competición y fluorescencia polarizada. Si bien todas son útiles, el uso de la computación y de nuevas tecnologías en el laboratorio permiten que las técnicas de ELISA y de Fluorescencia polarizada sean superiores al resto, ya que se trabaja con instrumental de precisión en el manejo de las muestras y los resultados son objetivos al ser leídos por un aparato y no por el ojo del laboratorista. Al presente la prueba de ELISA indirecto es la que mejor resultados ofrece, ya que posee una alta sensibilidad y una alta especificidad, por lo que podría ser usada como prueba única. La prueba de Fluorescencia polarizada necesita ser ajustada para su uso en caprinos como prueba confirmatoria ya que su especificidad ronda un 88 %, lo cual no es un valor aceptable. Para el caso de *B. ovis* se cuenta con las pruebas tradicionales de FC e inmunodifusión en gel de agar y últimamente el test de ELISA indirecto, siendo esta última técnica la de elección por su alta sensibilidad y especificidad (ambas por encima del 98 %), que permiten un diagnóstico de alta calidad utilizando una única prueba.

Referencias bibliográficas

- Alton, GG; Jones, LM; Angus, RD, Verger, JM. Techniques for the Brucellosis laboratory. INRA, París, Francia, 1988, 190 pág.
- Alvarez, L; García-Effron, G; Robles, C. Identification of *Brucella ovis* exclusive genes in field isolates from Argentina. *The Vet Jour*, 2016, 209: 196–198.
- Alvarez, L; Marcellino, R; Martinez, A; Robles, C. Duplex PCR for the diagnosis of *Brucella melitensis* and its differentiation from the REV–1 vaccine strain. *Small Ruminants Research* 2017, 146: 1–4.
- Draghi, MG; Zurbriggen MA; Rochinotti, D; Vanzini, VR; Homse, AC; Baez Kohn, AR. (1984) Brucelosis ovina: Estudio serológico en 6 departamentos de la provincia de Corrientes. *Vet. Arg.* 1 :39–43.
- Homse MS, Alvarez LP, Robles CA. Evaluación de una PCR en Tiempo Real para el diagnóstico de la brucelosis ovina en Patagonia. *Cong. Lat. de Microbiología*, 13 al 16 noviembre de 2018, Santiago, Chile.
- Monzón, N; Martínez, DE; Robles, CA. Brucelosis caprina en el chaco: epidemiología de la enfermedad y respuesta inmune de la vacuna *Brucella melitensis* Rev–1. Tesis doctoral, 7 septiembre 2022, FCV, Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes.
- Robles, CA; Chodilef, MM; Cabrera, FR. Respuesta inmune en caprinos criollos vacunados con la vacuna *Brucella melitensis* REV 1 aplicada por vía conjuntival. *Rev. med. vet.* 2020, 101(1): 65–70.
- Robles, CA.; Martínez, A; Chodilef, MM. Brucelosis ovina en Patagonia: Análisis de 15 años de diagnóstico en el Laboratorio de Brucelosis del INTA Bariloche. XIX Reunión Científico–Técnica de la AAVLD, 7–9 noviembre de 2012, Buenos Aires, Argentina.
- Robles, C; Gaido, A; Spath, E; Torioni de Echaide, S; Vanzini, V; Zielinski, G; Aguirre, D; Samartino, J; Rossanigo, C. Brucelosis caprina en la Argentina Ediciones INTA, 2014, 1era edición. 29 pag. Libro.
- Späth, EJA.; Malena, R.; Paolicchi F. 2002. Epididimitis ovina (*Brucella ovis*). Análisis serológicos realizados entre 1998 y 2002 en INTA Balcarce. 14ª. Reunión Científico Técnica AAVLD. Villa Gral. Belgrano, 13–15 noviembre 2002.
- Xavier, MN; Silva, TMA; Costa, EA; Paixão, TA; Moustacas, VS; Carvalho Junior, CA; Santana, FM; Robles, CA; Gouveia, AMG; Lage, AP; Tsolis, RM; Santos, RL. Development and evaluation of a species–specific PCR assay for the detection of *Brucella ovis* infection in rams. *Veterinary Microbiology*, 2010, 145:158–164.

Ivana Moncá. Vet. Directora Técnica del Laboratorio Regional Senasa Esquel LR0005 dependiente de la Dir. Gral. de Lab. y Control Técnico y Ctro. Reg. Patagonia Sur.



RESULTADOS DE SEROPREVALENCIA DE BRUCELOSIS CANINA EN ESQUEL

Vet. Ivana Moncá
Laboratorio Regional
Senasa Esquel. Esquel Pcia. Chubut, Argentina.
imonca@senasa.gob.ar

La brucelosis canina es una enfermedad zoonótica, de curso crónico, causada por *Brucella canis*. En los animales presenta un amplio espectro de signos y síntomas que pueden ser variables e inespecíficos como apatía, fiebre, pérdida de peso progresiva, disminución de la libido, pérdida de la condición corporal e intolerancia al ejercicio. En particular compromete principalmente el sistema reproductivo, esencialmente las hembras manifiestan aborto o nacimiento de cachorros con muerte perinatal. En los machos causa atrofia testicular, epididimitis, orquitis y/o prostatitis. Además, en ambos sexos, la enfermedad afecta el sistema osteoarticular, ocasionando artritis, artralgia y discospondilitis. En estados crónicos se evidencia hepatomegalia, uveítis, como así también infertilidad. La infección en el ser humano se produce por contacto directo con secreciones vaginales y excreciones (orina, restos de fetos abortados), provenientes de caninos infectados. El presente trabajo fue realizado por un equipo de funcionarios de diferentes instituciones (Área Programática-Min. Salud Chubut, Dpto. Zoonosis municipal, Fundación Amigos de los Animales Esquel, Lab. Central Senasa Martínez). El objetivo fue determinar el estado de situación epidemiológica de brucelosis canina en la ciudad de Esquel, en el departamento Futaleufú en la provincia de Chubut. La Vigilancia Epidemiológica Activa estuvo dirigida específicamente a caninos que asistían al quirófano móvil municipal de la localidad para intervención quirúrgica. Se realizó un muestreo dirigido para el cual se admitieron quinientos (500) canes en el período de un año (2019-2020). La población en estudio fue de machos y hembras de diferentes edades, tamaños, razas, barrios, pertenecientes a propietarios fijos y transitorios. Se tomaron muestras sanguíneas por venopunción en vena cefálica antebraquial. Luego se obtuvo el suero por centrifugado. Por cada perro/a se registraron los datos en un protocolo/acta vinculada. La totalidad de las muestras se remitieron al Laboratorio Regional Senasa Esquel LR0005. Se utilizó la técnica diagnóstica de seroaglutinación rápida en portaobjeto RSAT. (Antígeno Senasa). Asimismo, se fraccionaron y enviaron contramuestras al Laboratorio Central Senasa Martínez, Dpto. de Brucelosis para el diagnóstico por ELISA a los sueros positivos al screening. Análisis de datos: La distribución de los animales muestreados fue; n:500, 330 (66 %) hembras y 170 (34 %) machos. La distribución según edades fue rango 1: hasta 1 año 226 (45.20 %), rango 2: de 1 a 3 años 152 (30.40 %), rango 3: de 3 a 6 años 90 (18 %), rango 4: más de 6 años 11 (2.2 %), rango 5: sin dato de edad (porque son perros encontrados en la vía pública y con tutela transitoria) 21 (4.2 %). Resultados analíticos: al screening de RSAT resultaron 480 (96 %) canes negativos y 20 (4 %) positivos. De las hembras n 330 el 3.3 % resultaron positivas y 96.7 % negativas y en machos n 170, el 5.3 % positivos y 94.7 % negativos. En los rangos de edad los reactores fueron: rango 1 del 0.8 %, 2 del 1 %, 3 del 2 %, 4 ninguno, 5 del 0.2 %. Con la técnica confirmatoria de ELISA, resultaron 488 (97,6 %) canes negativos y 12 positivos, prevalencia de 2.4 %. La notificación formó parte de los profesionales del Área Programática Esquel (APE), quienes comunicaron a los propietarios de los canes reactores. También, se muestrearon los caninos convivientes, y resultaron negativos en un total de veintiséis (26) sueros analizados por técnica RSAT. Conclusiones: la enfermedad, si bien presenta seroprevalencia baja está presente en esta ciudad. Obtener muestras en el quirófano móvil nos permitió que aquellos animales seropositivos regresen castrados con sus tutores; es la primera medida para disminuir el riesgo zoonótico. Los canes que asistieron al centro sanitario fueron en mayor proporción animales jóvenes; por lo que podemos inferir un sesgo en la prevalencia obtenida. El hecho de poder trabajar en forma conjunta en el diagnóstico con el Lab. Central de Senasa, nos permitió comparar técnicas eficazmente. A futuro sería importante tener en cuenta las siguientes consideraciones: Establecer un muestreo de Vigilancia Pasiva, en el cual puedan participar los veterinarios particulares. Reforzar y coordinar acciones mancomunadas con los organismos competentes en Salud Pública afirmando competencias en el concepto de Una Salud. Incentivar a los profesionales privados para que tengan en cuenta esta patología y considerarla dentro de los diagnósticos diferenciales en su clínica diaria; contando con el servicio analítico

del Laboratorio Regional Esquel. Realizar un censo canino en Esquel sería una herramienta de suma importancia para proyectar políticas de salud, distribuir correctamente los recursos y administrar los esfuerzos para evitar la transmisión de enfermedades zoonóticas.

Referencias bibliográficas

Guía para el equipo de salud Nro. 12. Enfermedades infecciosas | Brucelosis. Dirección de Epidemiología - Ministerio de Salud de la Nación, 2013.

Ramírez, H, Calles, S, Echevarría, L, Morales, S. Prevalencia de brucelosis canina en dos distritos de la provincia constitucional de Callao. Rev. Inv. Vet. Perú. 2006, 17 (1):39-43.

Tuermers, C, Luders, C, Rojas, M, Serri, M, Castillo, C, Espinoza, R. Detection of *Brucella Canis* by immunochromatography method in vague dogs captured in Temuco city, Chile. Rev. Chilena Intercol. 2013, 30 (4):395-401.

Eduardo Thern. Méd. Vet., Inspector Vet. Referente acuícola en el CRPN-Senasa y Profesor adjunto de Enfermedades Infecciosas de la UNRN.
Leonardo Ripoll. Méd Vet. Coordinador de Sanidad Animal en el CRPN-Senasa.



VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA EN ANIMALES ACUÁTICOS EN LA CUENCA ALTA DEL RÍO LIMAY Y EMBALSE ALICURÁ

Thern Eduardo Roberto¹ y Ripoll Leonardo²

¹Senasa, Choele Choel, Río Negro, Argentina

²Senasa, General Roca, Río Negro, Argentina

ethern@senasa.gov.ar

lripoll@senasa.gob.ar

Las enfermedades que afectan a los peces tienen impacto en la producción acuícola, en la salud y bienestar animal, en la salud pública y en la conservación de la biodiversidad. Las enfermedades de los peces pueden generar diferentes signos y síndromes, por ejemplo: síndromes de anemia, de movimientos fugaces, hemorrágicos, de letargo y tegumentarios, además de reducción del crecimiento esperado, aumento anormal de la mortalidad, disminución en el consumo de alimento, entre otros. En caso de una mortandad masiva, podría deberse a problemas con la calidad del agua, alimentos o agentes infecciosos altamente virulentos, mientras que las muertes en número reducido e intermitente son más difíciles para determinar sus causas, pudiendo tratarse de agentes infecciosos menos virulentos. Entre las enfermedades que actualmente se encuentran bajo control sanitario en salmónidos están: necrosis hematopoyética epizootica (NHE), necrosis hematopoyética infecciosa (NHI), septicemia hemorrágica viral (SHV), necrosis pancreática infecciosa (NPI), anemia infecciosa del salmón (AIS), enfermedad bacteriana renal (EBR), piscirickettsiosis (SRS) y girodactilosis. El sistema de detección precoz es un sistema eficaz para reconocer los signos clínicos relacionados con una enfermedad que afecte poblaciones de animales acuáticos a fin de que se puedan emprender las investigaciones necesarias para el diagnóstico en el menor plazo posible. Durante los años 2006 a 2008, se llevó a cabo un relevamiento sanitario de salmónidos en la zona Cuenca Alta del Río Limay y el Embalse Alicurá, para la determinación del estado sanitario, respecto de enfermedades como la NHE, NHI, SHV, NPI, AIS, EBR y SRS. De 2006 a 2008 se tomaron un total de 1249 muestras de peces adultos de las cuales 589 correspondieron a peces silvestres y 660 a peces de cultivo. Este trabajo concluyó con un informe final de Autodeclaración de esta zona como libre de las enfermedades anteriormente mencionadas ante la Organización Mundial de Sanidad Animal (OMSA), el cual se presentó en el mes de mayo de 2010 en la 78° Asamblea General de la OMSA en París, y publicado en el 4° Boletín Oficial de dicha organización a fines de ese mismo año. Durante los años 2009 a 2022, se mantuvo el programa anual de vigilancia activa, el cual se describe a través del programa de vigilancia epidemiológica para las enfermedades de notificación obligatoria de salmónidos en la zona Cuenca Alta del Río Limay y zonas aledañas. A partir del año 2009 en adelante, el número de muestras se elevó a 170 animales para mejorar la sensibilidad. En total se analizaron 2127 muestras de peces adultos de los cuales correspondieron a 878 peces silvestres y 1249 peces de cultivo. Hasta la actualidad, se obtuvieron durante 20 campañas, un total de 3376 muestras de peces de los cuales fueron 1467 silvestres y 1909 peces de cultivo. A partir del año 2019, se incorporó al muestreo el embalse de Piedra del Águila. Se rediseñaron los puntos de muestreo y se incorporaron nuevos puntos para que la muestra fuese representativa para los dos embalses (Embalse Alicurá y Embalse Piedra del Águila). También se tomaron muestras para demostrar la ausencia de una nueva enfermedad incorporada a la lista de enfermedades de notificación obligatoria de la OMSA, la girodactilosis (*Gyrodactylus salaris*). Dicha enfermedad fue incorporada al sistema de vigilancia y se puso a punto la técnica de determinación de *Gyrodactylus salaris* en el laboratorio de Senasa. El diseño de los muestreos ejecutados se determinó en base a las recomendaciones del Capítulo 1.4. del Código Sanitario para los Animales Acuáticos y el Manual de Diagnóstico de la OMSA. Este fue dirigido al 100 % de los establecimientos de cría y engorde de trucha arco iris dentro del embalse y zonas aledañas y a las poblaciones de salmónidos silvestres. Los análisis de laboratorio se basan en dos tipos de métodos analíticos en paralelo: anatomopatología y biología molecular mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR). A los fines de calcular el tamaño de la muestra se toman en cuenta los siguientes supuestos: asegurar con un 95 % de confianza lo cual nos permite detectar al menos un individuo positivo si la prevalencia esperada es igual o inferior al 2 % para cada una de las enfermedades. En base a lo expuesto se deben muestrear 170 animales por campaña entre animales silvestres ($n=85$) y de cultivo ($n=85$) de los establecimientos de engorde que se encuentran dentro del Embalse Alicurá. Los muestreos anuales, en el marco de la vigilancia activa se realizan en establecimientos de engorde y de cría ("hatcheries"). Las muestras se realizan sobre animales enfermos (si los hubiese) y se completan con animales aparentemente sanos. Se toman muestras de peces vivos y se los sacrifica con dosis anestésicas

letales de benzocaína en polvo, diluida en una solución sobresaturada con acetona o alcohol 96°. Una vez muerto el animal se procede al pesaje y toma de medida de largo total (LT) y largo estándar (LS). Se realiza una inspección externa del animal y se registran los datos en un protocolo de toma de muestra. Luego, se procede a la necropsia del animal. En forma rutinaria se muestrean los siguientes órganos: bazo, hígado, pronefros, metanefros, branquias, corazón y aletas. Las muestras de órganos para diagnóstico histopatológico se conservan en formol al 20 % bufferado en una relación de 1/10 (muestra/fijador). Ocasionalmente se usa líquido de Bouin para fijación de tejidos especiales como piel y branquias. Las muestras procedentes de un mismo animal son contenidas en un mismo frasco. Para el procedimiento de toma de muestra para PCR las muestras de bazo, hígado, pronefros, metanefros y corazón se acondicionan para preservar la integridad del material genético (ADN y ARN) de los patógenos a estudiar. Las muestras son preservadas y transportadas en crioviales en termos de nitrógeno líquido. A través de las metodologías de amplificación molecular aplicadas, no se han detectado las secuencias específicas de los agentes etiológicos responsables de las patologías estudiadas. En los análisis histopatológicos no se han observado lesiones compatibles con enfermedades infecciosas tras el examen de todos los órganos de cada uno de los ejemplares estudiados. En conclusión, los avances logrados gracias al conocimiento del estado sanitario de la zona, programas de vigilancia activa y pasiva, aplicación de buenas prácticas de manejo y mejoras en la bioseguridad de los criaderos, han logrado el mejoramiento de nuestra industria nacional para la apertura de nuevos mercados internacionales. De este modo, se apunta a que la producción lograda cumpla con los indicadores de calidad e inocuidad alimentaria necesarios para su aceptación en los mercados nacionales e internacionales.

Referencias bibliográficas

OIE. Manual de Diagnóstico para los Animales Acuáticos, Sección 2. 1. Capítulo I. 1. B. Enfermedades de los peces. 2006.

OIE. Código Sanitario para los animales acuáticos, 12° edición. 2009.

Resolución N° 779 de 1999 [SENASA], Aprueba el Sistema Nacional de Emergencias Sanitarias (SINAESA), 26 de julio del año 1999.

Resolución N° 21 de 2001 [SENASA] Programa de Enfermedades de los Animales Acuáticos, 5 de enero del año 2001.

Resolución N° 422 de 2003 [SENASA] Sistema de Notificación de Enfermedades Animales, 20 de agosto del año 2003.

Resolución N° 153 de 2021 [SENASA] Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica de enfermedades animal, 30 de marzo del año 2021.

Ariel Koval. Méd. Vet. Esp en Diagnóstico. En 1994 comenzó a trabajar en el Laboratorio de Leptospirosis de Senasa y en 2004 ingresó a Biogénesis Bagó.



HEMOGLOBINURIA BACILAR: ASPECTOS DEL DIAGNÓSTICO Y CONTROL

Koval Ariel Alejandro
Biogénesis Bagó S.A., Garín, Buenos Aires, Argentina
ariel.koval@biogenesisbago.com.ar

La Hemoglobinuria Bacilar es una enfermedad aguda y mortal del ganado bovino producida por *Clostridium haemolyticum* (*C. novyi* tipo D). Su patogenia es particularmente compleja. La presencia de esporas del clostridio en el hígado de los animales es condición necesaria pero no suficiente. Se requiere de un factor desencadenante que lesione el hígado generando condiciones de baja tensión de oxígeno para que las esporas germinen, la forma vegetativa comience a multiplicarse y produzca una toxina que destruye los glóbulos rojos y termina matando al animal afectado. El factor desencadenante tradicional es la lesión del parénquima hepático por la migración de larvas del parásito *Fasciola hepática*. También se describe la compresión que ejerce un feto grande sobre el hígado, como causa de isquemia, capaz de generar una zona de baja tensión de oxígeno que favorece la germinación de las esporas y desencadena la enfermedad. Así, en varias regiones ganaderas del mundo, incluyendo nuestro país, la enfermedad se presenta en zonas donde se encuentra *F. hepática* y los caracoles acuáticos que son huéspedes intermediarios del parásito. En general, zonas bajas, encharcadas, que favorecen la multiplicación de los caracoles necesarios para completar el ciclo parasitario. En Argentina, los mallines de la precordillera patagónica, zonas bajas en el delta del Paraná y la cuenca del Salado en la provincia de Buenos Aires son regiones donde esta enfermedad es endémica. Particularmente en la cuenca del Salado, zona de cría tradicional, en los últimos años se han presentado brotes graves con mortandades importantes de animales que generaron preocupación en médicos veterinarios y productores de la zona, en muchos casos sin la presencia de *Fasciola*. La gravedad de los brotes motivó un renovado interés por el diagnóstico y las vacunas para prevenir esta enfermedad, considerando que tanto las vacunas nacionales como importadas no conferían adecuada protección en los rodeos vacunados. Desde el punto de vista del diagnóstico, el aislamiento de esta bacteria constituye un verdadero desafío para el microbiólogo. Dentro de los clostridios patógenos, *C. novyi* tipos A, B y D (*C. haemolyticum*) son los más exigentes en relación con las condiciones de anaerobiosis requeridas para su cultivo. Incluso los intentos de sembrar en el campo, inmediatamente de obtenida la muestra, colocando las placas en jarras de anaerobiosis resultaron infructuosos (Ernesto Odriozola, comunicación personal). Para obtener aislamientos se modificó el procedimiento para la toma y remisión de muestras, así como también los medios y métodos de cultivo. La muestra consiste en un trozo de hígado de aproximadamente 5 cm x 5 cm de la periferia de la lesión que es patognomónica y debe estar siempre presente (mal llamado infarto hepático), obtenida de un animal recientemente muerto, sumergida en un frasco de boca ancha conteniendo glicerol al 50 % en agua. Este no es un método nuevo, pero es poco conocido. El glicerol al 50 % mata las formas vegetativas (del clostridio y de potenciales contaminantes) y permite que bacterias que están esporulando finalicen el ciclo, además de no requerir cadena de frío y mantener la muestra en condiciones durante varios días. Esto facilita al veterinario tomar la muestra, disponer de tiempo para remitirla al laboratorio sin cadena de frío y, al laboratorista, preparar los medios sin apresuramiento. En cuanto al cultivo, los medios con trozos de órganos (Tarozzi o Robertson) son definitivamente insustituibles. Siempre deben ser preparados recientemente y reducidos 10 minutos con las tapas flojas en baño maría en ebullición (tubos con tapas a rosca). Finalizado el tiempo, se ajustan las tapas y se enfrían. Se toma una porción de la parte interna de la muestra (no expuesta al aire) y se cortan trozos pequeños que se introducen en los tubos de Tarozzi. Se colocan los tubos en la jarra de anaerobiosis con las tapas flojas y se incuban 24–48 horas a 37 °C. El desarrollo se evidencia durante la incubación por el aumento de turbidez y la formación de burbujas de gas. Finalizada la incubación, se sacan los tubos de la jarra y se repican a medios sólidos, agar sangre y agar yema de huevo. Ambos medios deben estar recién preparados o conservados en jarra en condiciones de anaerobiosis, utilizando doble concentración de agar (agar endurecido) y bien secos. En estas condiciones se puede aislar el microorganismo en pureza, verificando hemólisis en el agar sangre y reacción lecitinasa positiva en el agar yema. No ha resultado satisfactoria la siembra directa en medios sólidos, siempre primero se recomienda cultivar en Tarozzi. La tipificación clásica implica inocular dos ratones por vía intravenosa con sobrenadante de Tarozzi y otros dos

ratones con el mismo sobrenadante previamente incubado con antitoxina Beta específica. Los primeros mueren por acción de la toxina y los segundos sobreviven por estar la toxina neutralizada, confirmando que la única toxina presente es Beta y se trata de *C. haemolyticum*. Para remitir muestras para su tipificación, siempre enviar un cultivo puro en Tarozzi, sembrado a partir de una colonia lecitinasas positiva de agar yema. Otra alternativa es sembrar a partir de una colonia una placa de agar yema, dejar que el microorganismo esporule durante una semana y luego cosechar las esporas con solución fisiológica y al volumen obtenido incorporarle igual volumen de glicerol (las esporas quedan en glicerol al 50 % y se conservan por años). Respecto de las vacunas, se testearon oportunamente vacunas nacionales e importadas con la prueba de referencia descrita para esta valencia en cobayos. La técnica consiste en vacunar y revacunar ocho cobayos dejando otros ocho como controles o testigos. Al día 30 se desafían ambos grupos con 100 dosis letales 50 % (DL 50) de esporas suspendidas en cloruro de calcio al 5 % que actúa como necrosante muscular, aplicadas por vía intramuscular en una pata de los animales. Se encontraron vacunas que no conferían protección alguna. Tres vacunas que superaban muy bien la prueba no funcionaban en condiciones de campo. Quedó en evidencia que la prueba de potencia es muy útil para discriminar vacunas que protegen de aquellas que no, pero no garantiza que las que protegen a los cobayos protejan a los bovinos en situaciones de alto desafío. En la bibliografía se destaca la importancia de la toxina transformada en toxoide como antígeno relevante para la formulación de vacunas. Sin embargo, se elaboraron vacunas experimentales con toxoide solo, soma bacteriano joven centrifugado para eliminar el toxoide y una vacuna combinando los dos antígenos (soma bacteriano + toxoide). Las tres versiones se testearon en cobayos y resultaron satisfactorias. Estos experimentos permitieron sacar algunas conclusiones: la primera que el toxoide es importante pero el soma bacteriano también tiene una contribución importante a la inmunidad, y la segunda, que el modelo en cobayo no correlaciona con la protección en bovinos. Así, elaboramos una vacuna que combina soma bacteriano y toxoide, con una masa antigénica tal que aun diluyendo la vacuna cinco veces supera con holgura la prueba en cobayos. Esta vacuna monovalente, en campo se comportó de manera excelente, confiriendo inmunidad muy sólida y eliminando los brotes epidémicos en todos los rodeos problema. Así, productores y veterinarios cuentan hoy con una herramienta probada para la prevención de la hemoglobinuria bacilar.

Referencias bibliográficas

Saint Martin, M.; Ferreyra, A.; Brutti, C.; López, C.; López, S.; Bentancor, L.; Koval, A. Aislamiento de 5 cepas de *Clostridium haemolyticum*: descripción de la metodología para aislamiento y tipificación. Vet. Arg. Vol. XXXI N° 314, junio 2014.

Sterne, M. y Batty, I. Clostridios Patógenos. Editorial ACRIBIA.

Marcela Larroza. Méd. Vet., Dra. Cs. Vet. Está a cargo del Laboratorio de Parasitología del Grupo de Salud Animal de INTA Bariloche.



RESISTENCIA DE *FASCIOLA HEPATICA* A FASCIOLICIDAS

Marcela Larroza

Grupo de Salud Animal INTA Bariloche, Río Negro, Argentina

larroza.marcela@inta.gob.ar

La Fasciolosis, producida por *Fasciola hepatica* (Trematoda: Digenea) es una zoonosis parasitaria de distribución mundial, que afecta a gran cantidad de animales herbívoros y omnívoros, siendo considerada una de las enfermedades parasitarias más importantes de los rumiantes domésticos. En general, parasita a animales de regiones con lluvias moderadas a intensas, aunque también ocurre en regiones más secas y a lo largo de arroyos o canales de riego que albergan caracoles del género *Lymnaea* quienes actúan como huéspedes intermediarios en el ciclo biológico. La prevalencia y distribución de *F. hepatica* en animales de producción se ha incrementado en los últimos años a nivel mundial, con el consiguiente riesgo de mayores pérdidas productivas. Particularmente en la región patagónica argentina, se han reportado prevalencias generales de fasciolosis en la última década, estimadas según análisis coprológicos, de aproximadamente el 60 % en ovinos, y 70 % en bovinos. El triclabendazol (TCBZ), ha sido uno de los fármacos antihelmínticos de elección para controlar la fasciolosis en animales de producción durante los últimos 30 años, principalmente por su eficacia contra estadios maduros e inmaduros de *F. hepatica* en el huésped definitivo. El uso frecuente e indiscriminado del TCBZ, en general sin supervisión veterinaria, trajo como consecuencia el desarrollo de resistencia antiparasitaria, reportada inicialmente en Australia en ovinos a mediados de la década del 90, y considerada actualmente como un problema a nivel mundial, tanto en ovinos como en bovinos. En Argentina, en el año 2011 fue reportado el primer caso de resistencia de *F. hepatica* al TCBZ en bovinos, en la provincia de Neuquén, con registros posteriores de resistencia antiparasitaria en ovinos y bovinos en las provincias de Río Negro, Chubut y Santa Cruz (SIRSA - Lab. de Parasitología INTA Bariloche). La resistencia antiparasitaria en el campo suele sospecharse cuando la respuesta clínica al tratamiento fasciolicida en los animales no es la esperada, en general debido al hallazgo de ejemplares de *F. hepatica* en el hígado en de animales tratados, observados en faenas para consumo. Sin embargo, debe diferenciarse entre resistencia antihelmíntica y falta de eficacia del producto utilizado, frecuentemente derivada del manejo deficiente del antiparasitario (ajuste de dosis por estimación visual del peso vivo, pérdida de producto durante la aplicación, inadecuada calibración de jeringas dosificadoras, etc.). Existen diversos métodos *in vivo* e *in vitro* para evaluar la eficacia de fasciolicidas, y eventualmente realizar el diagnóstico de resistencia antiparasitaria. Entre estos métodos, el más utilizado a campo es el test de reducción del conteo de huevos en materia fecal (TRCH), una técnica diagnóstica simple y efectiva, que permite estimar la eficacia de antiparasitarios a través de la comparación de los conteos de huevos de *F. hepatica* por gramo de materia fecal (HPGFh) en animales antes y después del tratamiento. Desde el primer hallazgo de resistencia de *F. hepatica* al TCBZ en 2011 hasta la fecha, el Grupo de Salud Animal de INTA Bariloche ha realizado pruebas de eficacia a campo en ovinos, bovinos y caprinos, en establecimientos ganaderos de las provincias de Neuquén, Río Negro, Chubut y Santa Cruz. Estas pruebas fueron realizadas mediante el TRCH, evaluando distintas formulaciones de TCBZ, Albendazol, Closantel, Nitroxinil y Clorsulón, principios activos utilizados habitualmente como fasciolicidas. Como resultado, se registró la resistencia a campo de *F. hepatica* a TCBZ y Albendazol en ovinos y bovinos en 5 establecimientos de la pcia. de Neuquén, al TCBZ en ovinos en 2 establecimientos de la pcia de Río Negro, y en ovinos y bovinos en 9 establecimientos en la pcia. de Chubut. En la zona cordillerana de la pcia de Santa Cruz, se realizó el reciente hallazgo de resistencia de *F. hepatica* al TCBZ en 1 establecimiento productor de ovinos (2022). Ante estos hallazgos, se evidencia la necesidad de implementar cambios en las prácticas de manejo antiparasitario, en general basadas exclusivamente en el uso de fasciolicidas, e incorporar medidas adecuadas para preservar la longevidad de las drogas existentes, considerando que la probabilidad de que nuevos principios activos lleguen al mercado en un futuro cercano es baja. Estas medidas deben estar enmarcadas en planes de manejo integral, que consideren desparasitaciones en base a resultados de análisis coproparasitológicos, la aplicación de estrategias de manejo del pastoreo de las diferentes categorías animales, y el conocimiento de la epidemiología regional de *F. hepatica*, lo cual permitirá disminuir la frecuencia de administración de fasciolicidas, y en consecuencia, reducirá el riesgo de resistencia antihelmíntica.

Referencias bibliográficas

Abdala, A; Cabrera, R; Chodilef, M; Herrera, R; Martinez, A; Olaechea, F; Larroza, M; Lauroua, C; Lopez,

P; Silva, C; Robles, C; Soler, P; Zabaleta, GI El SIRSA en la Patagonia: Principales enfermedades diagnosticadas en los últimos 10 años (2011-2021). Revista Presencia, 2022, 77.

Brockwell, Y; Elliott, T; Anderson, G; Stanton, R; Spithill, T; Sangster, N- Confirmation of *Fasciola hepatica* resistant to triclabendazole in naturally infected Australian beef and dairy cattle. Int J Parasitol Drugs Drug Resist, 2013, 4:48-54.

Crilly, J; Anderson, F; McCormick, I; O'Roarke, J; Wilson, K. Triclabendazole-resistant liver fluke: issues and strategies. Livestock, 2015, 20:86-95.

Fairweather, I; Brennan, G; Hanna, R; Robinson, M; Skuce, P. Drug resistance in liver flukes. International Journal for Parasitology Drugs and Drug Resistance, 2013, 12:39–59.

Fiel, C; Anziani, O; Suarez, V; Vazquez, R; Eddi, C; Romero, J; Caracostantógolo, J; Saumell, C; Mejía, M; Costa, J; Steffan, P. Resistencia antihelmíntica en bovinos, causas, diagnóstico y profilaxis. Rev. Vet. Arg, 2001, 171:21-32.

Kenyon, F; Sargison, N; Skuce, P; Jackson, F. Sheep helminth parasitic disease in south eastern Scotland arising as a possible consequence of climate change. Vet Parasitol, 2009, 163:293-297.

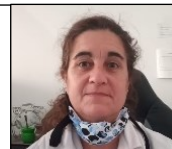
Moll, L; Gaasenbeek, C; Vellema, P; Borgsteede, F. Resistance of *Fasciola hepatica* against triclabendazole in cattle and sheep in The Netherlands. Veterinary Parasitology, 2000, 91:153–158.

Olaechea, F; Lovera, V; Larroza, M; Raffo, F; Cabrera, R. Resistance of *Fasciola hepatica* against triclabendazole in cattle in Patagonia (Argentina). Veterinary Parasitology, 2011, 178:364–366.

Ortiz, P; Scarcella, S; Cerna, C; Rosales, C; Cabrera, M; Guzmán, M; Lamenza, P; Solana, H. Resistance of *Fasciola hepatica* against Triclabendazole in cattle in Cajamarca (Peru): A clinical trial and an in vivo efficacy test in sheep. Veterinary Parasitology, 2013, 195:118–121.

Overend, D; Bowen, F. Resistance of *Fasciola hepatica* to triclabendazole. Australian Veterinary Journal, 1995, 72:275-276.

Alejandra Villordo, Lic. en Bromatología. Desde 2014 es Directora Técnica de Laboratorio Bromatológico, siendo anteriormente responsable Área Bromatología.



MICROBIOLOGIA EN AGUA DE RED PARA CONSUMO HUMANO

Villordo Alejandra

Laboratorio Bromatológico Alejandra Villordo

Bariloche, Río Negro, Argentina

avillordo@laboratorioav.com.ar

Las especificaciones microbiológicas para el análisis de agua de red, las brinda el Código Alimentario Argentino, ley 18.284 en su capítulo XII, artículo 982: Con las denominaciones de Agua potable de suministro público y Agua potable de uso domiciliario, se entiende la que es apta para la alimentación y uso doméstico: no deberá contener substancias o cuerpos extraños de origen biológico, orgánico, inorgánico o radiactivo en tenores tales que la hagan peligrosa para la salud. Deberá presentar sabor agradable y ser prácticamente incolora, inodora, límpida y transparente. El agua potable de uso domiciliario es el agua proveniente de un suministro público, de un pozo o de otra fuente, ubicada en los reservorios o depósitos domiciliarios. Estos recuentos deben ser realizados de acuerdo a las técnicas metodológicas indicadas en el mismo artículo, siendo los límites tolerables para coliformes totales menor a 1.1 NMP, para *Escherichia coli* ausencia; para *Pseudomona auroginosa* ausencia todas referidas a 100 mililitros de muestra y, en el caso de bacterias aerobias mesófilas, menor a 500 UFC referidas a un mililitro de muestra analizada. En caso que las bacterias aerobias mesófilas presenten un recuento mayor de 500 UFC/ml, solo se realizará una limpieza y desinfección del tanque de reserva, repitiendo este recuento para la verificación del cumplimiento. Estas bacterias son utilizadas como indicadores de contaminación. Las bacterias aerobias mesófilas son un grupo de bacterias que utilizan oxígeno y que nos da una estimación de la cantidad de bacterias que existen en un mililitro de agua analizada. Son bacterias que desarrollan en presencia de oxígeno en un rango de temperatura que va entre los 20 °C y 40 °C, siendo el ideal entre 30 °C y 40 °C. Su cultivo se realiza en medio Plate Count por 48 h a 35-37 °C. Los coliformes totales se definen como bacterias Gram negativas en forma bacilar que fermentan lactosa a temperatura de 35 a 37 °C y producen ácido y gas (CO₂) en 24-48 h, son aerobias o anaerobias facultativas, son oxidasa negativa, no forman esporas y presentan actividad enzimática β-galactosidasa. Entre ellas se encuentran *Escherichia coli*, *Citrobacter*, *Enterobacter* y *Klebsiella*. Las bacterias coliformes de origen fecal son aquellas comprendidas en el grupo anterior (coliformes totales), que además son capaces de fermentar la lactosa, con producción de ácido y de gas a 44 °C, en un tiempo máximo de 24 h. La *Pseudomona aeruginosa* es una bacteria con forma de bacilo (bastón) recto o ligeramente curvado, Gram negativo, aerobio, móvil (flagelo polar), capaz de formar un biofilm que le permite la adherencia, colonización y resistencia a antibióticos, razón por la cual, las cañerías de fábricas lácteas y de elaboración de aguas envasada son el ambiente ideal para el desarrollo de esta bacteria. Secreta diferentes pigmentos como fluoresceína, piorrubina y piocianina, esta última le da a la colonia una coloración verde característica (aunque existen algunas cepas no pigmentadas), es capaz de sintetizar sus propios factores de crecimiento o vitaminas y crecer a bajas temperaturas (refrigeración), no tolerando las altas temperaturas. Es un microorganismo ubicuo, se lo encuentra en el suelo, agua, plantas, animales, se la ha aislado de baños, duchas, jabón de tocador, bañeras de hidromasaje, sistemas de distribución de agua así como de catéteres, soluciones para lentes de contacto y soluciones de diálisis, de las heces, piletas, peceras, etc. Este patógeno oportunista cuando encuentra las condiciones adecuadas (personas inmunocomprometidas) es capaz de producir enfermedad (tiene la capacidad de infectar heridas producto de cirugías o quemaduras, provocar otitis, dermatitis, foliculitis, conjuntivitis, sinusitis, etc.).

Referencias bibliográficas

Larrea-Murrell, JA, Rojas-Badía, MM, Romeu-Álvarez, B, Rojas-Hernández, NM, Heydrich-Pérez, M, Bacterias indicadoras de contaminación fecal en la evaluación de la calidad de las aguas: revisión de la literatura. CENIC. Ciencias Biológicas 2013, 44(3):24-34.

<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=181229302004>

Obón de Castro, JM. 2006. upct: Análisis Microbiológico del Agua. https://www.upct.es/~minaeees/analisis_microbiologico_aguas.pdf

Pascual Anderson, MR, Microbiología Alimentaria: Metodología Analítica para Alimentos y Bebidas, 1992. Díaz de Santos SA, España.

Laura Novaro. Méd. Vet. Trabaja desde el año 2005 en el Laboratorio DILAB–Senasa y desde el año 2006 hasta la actualidad en el Departamento de Rabia.



RABIA: SU DIAGNÓSTICO

Novaro Laura Patricia

Departamento de Rabia y Enfermedades de Pequeños Animales

Coordinación de Bacteriología

DILAB–Senasa. Buenos Aires. Argentina.

lnovaro@senasa.gov.ar

La rabia es una de las zoonosis más temidas por el hombre, pudiéndose encontrar referencias descriptivas de la misma, desde épocas remotas. Esta enfermedad es causada por un virus neurotrópico que pertenece al género *Lyssavirus*, familia *Rhabdoviridae* que se transmite a los animales y al hombre ya sea por mordedura, inoculación o inhalación del virus infeccioso. Se encuentra ampliamente distribuida en el planeta y es responsable de más de 60 000 muertes de personas por año, siendo la mayoría de los casos en Asia y África. Esta encefalitis presenta una alta letalidad y su aparición en casos humanos representa un signo de debilidad en el sistema de salud ya que se dispone en la actualidad de cuantiosas herramientas para controlar a este flagelo mediante los planes de inmunización en personas y en animales conjuntamente con el diagnóstico de laboratorio. En cuanto al diagnóstico de la enfermedad, la observación clínica solamente puede conducir a la sospecha de rabia, porque los síntomas presentados no son característicos y pueden variar mucho de un animal a otro. El único modo de arribar al mismo es identificar el virus o alguno de sus componentes específicos mediante pruebas de laboratorio. Estas incluyen a los ensayos de inmunofluorescencia directa (IFD) y aislamiento viral realizado en ratones. Un punto crítico a considerar en dicho proceso, es la toma de muestras y el correcto envío de los animales sospechosos. Las muestras a remitir pueden ser de diferente naturaleza tales como cerebros enteros con médula, alícuotas del mismo, pasaje de ratones, saliva o animales enteros (murciélagos). Todo material sospechoso de infección debe ser manejado bajo condiciones apropiadas de seguridad especificadas por la Organización Mundial de la Salud (OMS). Estas medidas incluyen, la correcta manipulación del material mediante el uso de elementos de protección personal (guantes, anteojos, guardapolvos, cofia, barbijo, cubre calzados, entre otros). Además, es imprescindible que el personal que toma contacto con las muestras se encuentre vacunado y pueda demostrar tener niveles significativos de protección de anticuerpos antirrábicos. Las muestras deben colocarse en triple envase en contenedores herméticos rígidos y con material absorbente siguiendo las regulaciones que indica la Normativa sobre Materiales Peligrosos de la Asociación Internacional para el Transporte Aéreo garantizando su biocontención. Deberá ser enviado por un servicio de transporte rápido con hielo seco o refrigerado, acompañado con la ficha clínico–epidemiológica correspondiente, datos de receptor, remitente y el logo de bioseguridad. Si bien, gracias a los planes de vacunación se ha controlado la rabia urbana, continúan aún detectándose casos en animales de importancia económica, silvestres y murciélagos. Por tal motivo, es importante fortalecer las actividades de vigilancia epidemiológica, a través de los Programas Nacionales de Prevención y Control de la Rabia. De esto, se desprende la necesidad de una cooperación entre los organismos que la integran. A partir del año 2000 comenzó a funcionar la Red Nacional para Diagnóstico de Rabia, que se encuentra integrada por los laboratorios de la Red pertenecientes al área de salud humana y animal distribuidos en distintas áreas del país conjuntamente con el Laboratorio de Referencia Nacional. Este se encuentra integrado por dos instituciones, una es el Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas–Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud Malbrán (INEI–ANLIS Malbrán) y la otra el Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (Senasa). Este último tiene entre sus funciones la confirmación de los casos sospechosos mediante la técnica estándar de IFD y el aislamiento viral por inoculación en ratones. A su vez, los laboratorios que integran la Red Nacional envían aquellas muestras positivas para su caracterización antigénica. Para la realización de esta técnica se utiliza el panel de ocho anticuerpos monoclonales suministrados por el “Centers for Disease Control and Prevention” (CDC). Estos estudios, conjuntamente con la secuenciación, permiten profundizar las posibles vías de transmisión de la rabia en la Argentina, identificar aquellas especies animales que pueden servir como reservorios en el país y establecer relaciones genéticas entre estos y otros aislamientos realizados en Latinoamérica. Además, este departamento realiza otras funciones como la titulación de anticuerpos antirrábicos mediante la técnica de seroneutralización en ratones ya sea

para el personal que lo requiera, como para las mascotas que son destinadas a viajes al exterior según los requisitos del país de destino.

Referencias bibliográficas

Meslin FX, Kaplan MM, Koprowski H. Laboratory techniques in rabies World Health Organization. Geneva. 1996.

Ministerio de Salud Presidencia de la Nación. Guía para la prevención, vigilancia y control de la rabia en Argentina. 2018.

INEI-ANLIS – DILAB SENASA. Manual de Diagnóstico de Rabia.

Sergio D. Abate, Méd. Vet., Msc en Salud Animal y Doctor de la UBA.

Actualmente es Profesor de Microbiología e Investigador en la UNRN.



FAUNA SILVESTRE Y ZONOSIS EN PATAGONIA NORTE

Abate Sergio Damián

Universidad Nacional de Río Negro, Sede Atlántica, Centro de Investigaciones y Transferencia de Río Negro
sabate@unrn.edu.ar sabate@gmail.com

Las zoonosis constituyen un serio problema de creciente importancia, que afecta a la economía y a la Salud Pública. Se trata de más de 200 enfermedades contagiosas comunes entre los seres humanos y los animales vertebrados, que constituyen a nivel mundial el 60 % de las enfermedades infecciosas humanas. Las zoonosis provenientes de fauna silvestre pueden transmitirse por contacto directo entre el ser humano y los animales, o por contacto indirecto mediante vectores animados, animales domésticos intermediarios, fomites, el alimento incluyendo el agua o el medio ambiente. La presentación de un caso de zoonosis responde a los principios de la tríada + 1 que intentan explicar la multicausalidad de las enfermedades: participación del hospedador, del agente patógeno, del ambiente + tiempo de exposición. En la Patagonia noreste se vienen acrecentando diversos cambios ambientales de origen antrópico que incrementan el riesgo de zoonosis provenientes de fauna silvestre, por ejemplo, el aumento de la superficie destinada a explotación agropecuaria con una tendencia a la producción animal intensiva. Este incremento en la densidad de ganado por unidad de superficie constituye un factor de riesgo para que la carga de patógenos se amplifique en el ganado y pueda pasar al ser humano con más facilidad. En este punto debemos recordar que, para la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), la producción pecuaria constituye el eslabón más débil de la salud global. En el ambiente acuático, el aporte de nutrientes (fósforo y nitrógeno) por efluentes cloacales no tratados vertidos en la cuenca del Río Negro, ha generado cambios ecosistémicos cuyas consecuencias no han sido bien estudiadas. En otras regiones, estos impactos ambientales se vinculan al florecimiento de algas toxigénicas y mayor densidad de poblaciones de parásitos anisakidos en peces y mamíferos marinos. El aumento en el uso de trasmallos para la pesca comercial de subsistencia, no solo afecta las relaciones poblacionales de peces en el ecosistema marino, sino que es responsable de la mortandad accidental de mamíferos marinos de pequeño porte, que luego aparecen sin vida en la costa constituyendo un riesgo de zoonosis para las personas y animales que se acercan cuando esto ocurre en balnearios concurridos. A estos cambios antrópicos se suman aquellos cambios globales, como el aumento de la temperatura y de la amplitud térmica o las modificaciones en los patrones de lluvias responsables de inundaciones y sequías. La confluencia de los factores antrópicos y naturales mencionados generan desplazamientos de la fauna silvestre y de vectores, que pueden influir en la dinámica de las enfermedades infecciosas. Respecto al factor humano en la tríada de las enfermedades, merece destacarse que, como consecuencia de una situación socioeconómica crítica, una parte importante de la población patagónica caza, manipula, vende y consume proteína animal derivada de fauna silvestre, muchas veces de origen ilegal y casi siempre sin control sanitario: carne, embutidos, chacinados y conservas de jabalí o ciervo, huevos de ñandú, incluso carne de ñandú, puma, o vizcacha son algunos ejemplos. El mantenimiento de costumbres folklóricas de elevado riesgo biológico, la intromisión en ambientes naturales (en prácticas de turismo, para explotación de recursos naturales o en busca de vivienda lejos de las grandes ciudades), son conductas que incrementan el riesgo de ocurrencia de zoonosis a partir de fauna silvestre. La vigilancia epidemiológica en el ambiente silvestre genera información que permite conocer el surgimiento de nuevos patógenos, la re-emergencia de aquellos previamente controlados, así como el ingreso de patógenos exóticos. La fauna silvestre se encuentra protegida por leyes nacionales y provinciales, y para estudiarla se requiere autorización de autoridad competente. En nuestro caso, actualmente estudiamos animales silvestres autóctonos encontrados naturalmente sin vida en los ecosistemas naturales o en su interfase con el ambiente urbano y fauna atropellada en las rutas. Solamente solicitamos permiso de captura para el jabalí, y hasta 2018 hemos realizado capturas de pequeños roedores, en el marco de la tesis doctoral de la Dra. Marina Winter sobre ciclo silvestre de *Trichinella*. Al ser el jabalí una especie exótica, invasora y dañina, su captura y su muerte no perjudican a los ecosistemas naturales. Respecto de los pequeños roedores no hemos podido evidenciar la circulación de *Trichinella* spp, micobacterias patógenas ni virus Andes, pero hemos podido registrar la presencia del famoso ratón colilargo (*Oligoryzomys longicaudatus*): no había antecedentes de su presencia por captura en la zona de estudio. Sobre los roedores investigamos sus parásitos, de los que se hará mención al final de este trabajo. Respecto a las aves, investigamos el caso de mortandad de loros durante 2021, en la mayor colonia de barranqueros del mundo, ubicada en el balneario El Cóndor. En las necropsias se identificaron signos compatibles con enfermedad de Pacheco, y se tomaron muestras para estudios toxicológicos que arrojaron resultados negativos. En un trabajo en conjunto con Javier Origlia de la UNLP, estudiando diferentes patógenos mediante PCR, se evidenció la presencia del virus de la enfermedad de Pacheco como posible

responsable de la mortandad, y además verificamos la circulación de *Chlamydia psittaci*, un conocido agente zoonótico responsable de psitacosis, que en algún caso afectó a la provincia de Río Negro. Este sería el primer hallazgo de estos patógenos en la colonia de loros barranqueros de El Cóndor, una información relevante ya que hasta el momento los autodenominados referentes en la temática venían sosteniendo que se trataba de una colonia libre de virus y patógenos, situación que amparaba la mala conducta de parte de la población de llevarse loros enfermos a su casa en calidad de internación domiciliaria, exponiéndose a psitacosis. En el ambiente marino estamos investigando los primeros registros de anisakidos en pejerreyes capturados en la costa Atlántica de El Cóndor y La Baliza. Habitantes de la zona con más de 15 años de experiencia en el arte de la pesca deportiva y para autoconsumo han referido la observación en los últimos años de pequeños gusanos en los filetes de pejerrey. Hemos realizado la identificación morfológica según la cual se trataría de integrantes de la subfamilia *Anisakinae*, y al momento de redactar ese manuscrito estamos realizando estudios moleculares con el área de parasitología del Instituto Malbrán. También hemos investigado franciscanas aparecidas sin vida en El Cóndor, con lesiones típicas de interacción con trasmallos, y pudimos demostrar la infección en un animal por una cepa del complejo *Mycobacterium tuberculosis*, en un trabajo conjunto con la Dra. Soledad Barandiaran de la UBA; actualmente se están realizando estudios moleculares para identificar la cepa aislada. Este hallazgo es el primer registro de tuberculosis en franciscana, y nos obliga a preguntarnos sobre el origen de este patógeno en el nicho marino. Las franciscanas suelen remontar varios kilómetros aguas arriba del Río Negro, donde se realizan las descargas de cloacas crudas de la comarca Viedma Carmen de Patagones (donde viven aproximadamente 100 000 habitantes). Allí se vierten efluentes de limpieza de camiones de transporte de ganado, existen chacras con producción agropecuaria, un frigorífico de bovinos y porcinos, y una población en crecimiento de jabalíes de vida libre, que cruzan hacia ambos lados del estuario, interconectando establecimientos de producción agropecuaria con el ambiente acuático. Sobre esta población de jabalíes hemos detectado *M. bovis*. La identificación molecular de la cepa aislada facilitaría reconstruir la cadena epidemiológica de este caso, y tomar medidas que disminuyan el riesgo de esta zoonosis, así como mantener saludables a los ecosistemas naturales en línea con el paradigma “Un mundo, una salud”. El caso del jabalí es emblemático: sus características biológicas lo convierten en un excelente centinela sanitario. Desde 2015 estudiamos diferentes patógenos en jabalí. Además de los casos de tuberculosis mencionados en el párrafo anterior, hemos podido evidenciar serológicamente la circulación de cepas lisas del género *Brucella*, serovares patógenos del género *Leptospira*, virus de la hepatitis E, así como la circulación de los parásitos responsables de toxoplasmosis y trichinellosis. También hemos participado en el estudio multicéntrico de circulación de coronavirus en jabalíes, de mucho interés en el contexto de la pandemia Covid-19. Respecto a vectores, contamos con registros permanentemente actualizados de ectoparásitos hallados en fauna silvestre atropellada en las rutas, muertos por causas naturales, y de los roedores capturados en las campañas de 2018. Entre los resultados se destacan hallazgos de ectoparásitos hasta el momento no registrados en la Patagonia noreste, como es el caso de *Amblyomma pseudoconcolor* encontrada en un armadillo (*Chaetophractus villosus*) atropellado; sobre esta garrapata, estudios moleculares realizados por el grupo de investigación de S. Nava (INTA Rafaela) permitieron identificar una coinfección por *Rickettsia* sp. y *Ehrlichia* sp. Por otro lado, a partir de ejemplares de comadreja overa (*Didelphis albiventris*) se identificaron pulgas (*Ctenocephalides felis*) de las cuales estudios moleculares confirmaron la presencia de *Rickettsia* con capacidad zoonótica, en un trabajo en conjunto con el grupo de trabajo de Juliana Sánchez (UNNOBA-CONICET). En los últimos años, la velocidad de los cambios ambientales se ha acrecentado considerablemente, haciendo indispensable la investigación y vigilancia epidemiológica en fauna silvestre, para obtener información de utilidad para la Salud Pública, en línea con el paradigma “Un mundo, una salud”.

Referencias bibliográficas

- Winter M, Abate S, Failla M, Barandiaran S, Marfil J, Iñiguez M. Franciscana (*Pontoporia blainvillei*) found dead in Northern Patagonia, Argentina: record, description and sampling. International Whaling Commission 2021.
- Winter M, Abate S, Pasqualetti M, Farina F, Ercole M, Pardini L, More G, Venturini M, Perera N, Corominas M, Mancini S, Alonso B, Marcos A, Veneroni R, Castillo M, Birochio D, Ribicich M. *Toxoplasma gondii* and *Trichinella* infections in wild boars (*Sus scrofa*) from Northeastern Patagonia, Argentina. Preventive Veterinary Medicine. 2019;168:75-80. doi: 10.1016/j.prevetmed.2019.04.014.
- Patrick Stephan S, Winter M, Abate S, Tarragona E, Nava S. Molecular detection of *Candidatus Rickettsia andeanae* and *Ehrlichia* sp. in a female specimen of *Amblyomma pseudoconcolor* Aragão, 1908 (Acari: Ixodidae) collected from a large hairy armadillo (*Chaetophractus villosus*) in Patagonia, Argentina. En prensa en Animals (ID: animals-1972123).
- Winter M, Abate S, Acosta D, Sanchez J. Fleas in wild mammals: first records of *Ctenocephalides felis-Rickettsia felis* complex in Patagonia. II Congress of the Latin American Society for Vector Ecology. 2022 Abstract Book:141-142.

Agustín Martínez. Vet., Dr. Cs. Vet. Investigador de INTA. Responsable técnico del SIRSA. Coordinador CC Enfermedades Carenciales AAVLD.



PRINCIPALES PLANTAS TÓXICAS PARA EL GANADO DE LA PATAGONIA

Martínez Agustín

Grupo de Salud Animal INTA Bariloche, Río Negro, Argentina

martinez.agustin@inta.gob.ar

La expansión agropecuaria, las condiciones de sequía y los cambios en la alimentación animal, generan nuevos desafíos para el desarrollo de la ganadería y demandan ajustes en los modelos sanitarios para prevenir enfermedades. En ese contexto, las plantas tóxicas presentes en los campos representan una seria y permanente amenaza que ocasionan cuantiosas pérdidas productivas a nivel nacional. Si bien hay numerosos estudios sobre el diagnóstico, control y prevención de las especies tóxicas presentes en la región central de Argentina (Buenos Aires, Santa Fe, Córdoba y La Pampa), en la Patagonia, como sucede en el noroeste y noreste argentino, son incipientes los estudios sobre plantas con efectos tóxicos para el ganado. La mayoría de los campos que realizan la cría extensiva tienen especies de plantas que pueden causar toxicidad al ganado que las consume y pueden expresarse por medio de diferentes formas: muerte súbita, animales clínicamente enfermos, mermas en los índices reproductivos, abortos, malformaciones congénitas o afectar la "performance" productiva. La dificultad para diagnosticar tempranamente y/o limitantes para controlar las intoxicaciones generan importantes pérdidas productivas para el sector ganadero patagónico. La mascadera es una intoxicación crónica producto del consumo de *Prosopis alpataco*, un arbusto forrajero con un fruto rico en proteína y energía lo cual lo hace una especie muy palatable y frecuentemente consumida por los caprinos desde la zona del centro de Neuquén hasta la provincia de Salta. Esta especie posee dos alcaloides tóxicos, julisprosopina y julisprosina, encargados de producir lesión a nivel mitocondrial. Las lesiones se observan en un limitado grupo de células nerviosas correspondientes a tres núcleos nerviosos: facial, hipogloso y el motor del nervio trigémino. El daño neuronal lleva a una atrofia principalmente en músculos maseteros, lesión que da inicio a la sintomatología característica en caprinos que presentan movimientos de masticación sin coordinación y exagerados. Estos animales comienzan a perder condición corporal debido a no poder aprehender correctamente el forraje. El mal del Huecú es una intoxicación aguda que se produce cuando el ganado consume alguna de las dos gramíneas nativas como *Festuca argentina* o *Poa huecu*. Ambas gramíneas no son forrajeras, pero si los animales no las conocen y pastorean cuadros donde crecen estas plantas tienen altas probabilidades de intoxicación. Recientemente se identificó el tóxico tremorgénico, un alcaloide indoliterpeno llamado terpendol C, el cual es un producto intermedio en la ruta metabólica del lolitrem B. Este tóxico es producto de la interacción entre la gramínea y un hongo endófito, el *Epichlōe tembladeraae*. Su consumo provoca temblores musculares, convulsiones y muerte en los animales a dosis de 6 gr/kg de peso vivo. El locoísmo, una enfermedad de almacenamiento lisosomal adquirida, es una intoxicación crónica producida por el consumo de *Astragalus spp*. Estas leguminosas están presentes en la zona precordillerana desde Jujuy hasta Santa Cruz. En la Patagonia hay reportadas tres especies con potencial toxigénico y registro de intoxicación: *Astragalus pehuenches*, *Astragalus illini* y el *Astragalus chamissonni*. Estas especies tienen swainsonina, un alcaloide producido por un hongo endófito del género *Undifilium spp*. El consumo por más de tres semanas genera signos nerviosos como pérdida de equilibrio, ataxia, pérdida del estado corporal, trastornos reproductivos y muerte en equinos, bovinos y ovinos. El consumo de determinadas especies de coníferas está involucrado en la generación de abortos y/o nacimiento prematuro en bovinos. El aborto o nacimiento prematuro ocurre durante el último tercio de la gestación y se relaciona con el consumo de acículas tanto verdes como secas, que poseen los ácidos succinil y acetilisocuprésico, los cuales en el fluido ruminal son hidrolizados a ácido isocuprésico (ICA). Si bien, el mecanismo por el cual se produce el aborto se desconoce con exactitud, se ha demostrado que el ICA produce un aumento del tono vascular lo que reduce el flujo sanguíneo que llega al feto, además, suprime la esteroidogénesis disminuyendo la producción de progesterona lo cual induciría el aborto o parto prematuro. Los signos que se pueden ver en las madres antes de que ocurra el aborto son similares a los del parto, se produce edema en los órganos genitales y comienza la producción de leche, aún sin estar próxima la fecha de parto. En un estadio avanzado de la intoxicación, las vacas van a aparecer deprimidas, presentar descargas sanguinolentas y de olor nauseabundo por la vulva, con contracciones leves y dilatación incompleta del cérvix, pueden sufrir retención de placenta que, en algunos casos, produce toxemia y muerte del animal. En la Patagonia, en los primeros estudios se analizaron tres especies de coníferas determinándose concentraciones tóxicas de ICA únicamente en *Pino ponderosa*; además, se han registrado casos de aborto y de nacimientos prematuros con diagnóstico presuntivo de intoxicación por consumo de *Pinus spp*. Finalmente, la Patagonia no está exenta a la intoxicación por *Pascalía glauca*. Esta planta conocida como la principal planta tóxica de la

Argentina, posee un carboxiatractilósido que es hepatotóxico produciendo una lesión aguda necrótica a nivel centrolobulillar severa y masiva. En bovinos, es común observar el hígado con patrón reticular y el edema en la pared de la vesícula biliar y del duodeno. En caprinos su presentación macroscópica produce equimosis y petequias a nivel del parénquima hepático. Microscópicamente se observa la necrosis centrolobulillar con un componente hemorrágico importante. Esta intoxicación se ha visto en la Patagonia solo en sistemas donde existe una suplementación con rollos o fardos de alfalfa producidos en la región.

Referencias bibliográficas

Abdala A. et al. El SIRSA en la Patagonia: Principales enfermedades diagnosticadas en los últimos 10 años (2011-2021). Presencia. 2022; 77.

Apostolo R et al. Presunto brote de aborto bovino por consumo de *Pinus spp.* en la provincia de Chubut, Argentina. XXIII Reunión Científico-Técnica de la Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico. 2020.

Cholich LA et al. Alpha-mannosidosis caused by toxic plants in ruminants of Argentina. Annals of the Brazilian Academy of Sciences. 2021; 93:1-17. doi: 10.1590/0001-3765202120191496.

García J et al. Retrospective analysis of cattle poisoning in Argentina (2000-2013). Pesquisa Veterinaria Brasileira 2017; 37:210-214. doi.org/10.1590/S0100-736X2017000300002

Martínez A et al. Spontaneous outbreak of *Astragalus pehuenches* (Fabaceae) poisoning in cattle in Argentina. Toxicon. 2019; 157:84-86. doi: 10.1016/j.toxicon.2018.11.303.

Martínez A et al. Detection of swainsonine-producing endophytes in Patagonian *Astragalus* species. Toxicon. 2019; 171:1-6. doi: 10.1016/j.toxicon.2019.09.020.

Martínez A et al. Aborto bovino por consumo de pino: Análisis toxicológico. 4° Congreso Nacional de Sistemas Silvopastoriles. 2018.

Martínez A et al. Fatal stagger poisoning by consumption of *Festuca argentina* (Speg.) Parodi in goats from Argentine Patagonia. Toxicon. 2020; 186:191–197. doi: 10.1016/j.toxicon.2020.08.004.

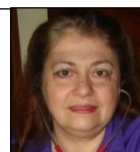
Robles CA et al. Intoxicación por *Astragalus pehuenches* (locoismo) en ovinos Merino de la Patagonia Argentina. Revista de Medicina Veterinaria. 2000; 81(5):380-384.

Robles C et al. Aspectos de la dieta en caprinos afectados por Mascadera en la provincia del Neuquén, Argentina. Asociación Argentina de Producción Animal. 2010.

Tsui KH et al. Molecular Mechanism of Isocupressic Acid Suppresses MA-10 Cell Steroidogenesis. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2012:190107. doi: 10.1155/2012/190107.

Zabaleta G et al. Indole-diterpenes alkaloid profiles of native grasses involved in tremorgenic syndromes in the Argentine Patagonia. Toxicon. 2022; 217:107-111. doi: 10.1016/j.toxicon.2022.08.001

Gabriela Pérez Tort. Méd. Vet, Esp. en Docencia, Esp. Clínica en Caninos y Felinos y Esp. en Parasitol y Enf. Parasitarias. Es Profesional "Cat Friendly" de la "International Society of Feline Medicine".



TOXOCARIOSIS CANINA

Pérez Tort Gabriela

Hospital Veterinario de Virreyes, Provincia de Buenos Aires, Argentina

gabrielapt@gmail.com

El núcleo materno infantil: dos de las parasitosis gastrointestinales más frecuentes y relevantes de los perros (toxocariosis y anquilostomiasis) son transmitidas por la perra a sus cachorros. La toxocariosis es una parasitosis que afecta principalmente a los animales jóvenes. Presenta una amplia distribución y se incluye entre las afecciones parasitarias más frecuentes en la clínica veterinaria. Podríamos afirmar que el 100 % de los animales ha tenido en algún momento de su vida contacto con los ascárides. Los agentes causales tienen localización intestinal y son *Toxocara canis* y *Toxascaris leonina*. En este artículo nos focalizaremos en toxocariosis por *Toxocara canis*. La prevalencia de *Toxocara canis* es mayor en cachorros menores de 6 meses de edad (75 al 90 %), se reduce en los animales adultos (15 al 18 %). También se observa un aumento de esta parasitosis en las hembras caninas posparto (20 al 25 %). Debemos hacer notar que si bien la prevalencia de *Toxocara canis* en el intestino de cachorros es mayor que en el de los adultos, la población en estos últimos mantiene un alto nivel de parasitosis en forma no patente (larvas enquistadas). Merecen un capítulo aparte los pacientes gerontes inmunosuprimidos dado que además de otros nematodos (*Ancylostoma* y *Trichuris* frecuentes en la tercera edad) se podrán observar huevos de *Toxocara* en este grupo etario, que son también un indicador de inmunosupresión. En la Argentina, la prevalencia promedio de *Toxocara canis* es de 13,1 %. Los caninos más afectados son los menores de un año, de condiciones socioeconómicas bajas y aquellos que son vagabundos. Lamentablemente hasta que no se acceda a realizar estudios mediante PCR de la materia fecal, no se puede asegurar que los huevos que se observan en un análisis coproparasitológico pertenezcan realmente a *Toxocara canis*, dado que es frecuente que los caninos consuman materia fecal de gato que posea *Toxocara cati*. La forma infectante es el huevo con la larva 3 (L3). De aquí en más el ciclo puede tener variaciones, según las características que presente el hospedador (edad y sexo) que ingiere el huevo larvado. En los perros mayores a 6 meses, con un aparato inmunitario desarrollado, el cual ante la presencia de larvas circulantes desencadena una respuesta humoral y celular que lleva al secuestro y encapsulamiento de las larvas en diferentes tejidos (hígado, riñón, cerebro, músculos esqueléticos, etc.) se forman granulomas eosinofílicos. Las larvas sobreviven así varios meses e incluso años, y mueren al ocurrir la calcificación del granuloma. Esta evolución es la que se conoce como migración somática. En la perra gestante las larvas que estaban adormecidas, despiertan por estímulo de diversos factores y entran en la circulación alrededor del día 40-42 de gestación. Migran por la sangre hasta la placenta y a través de la vena umbilical parasitan al feto para permanecer en el hígado, sin evolucionar, hasta el momento del nacimiento. Esto se denomina transmisión transplacentaria. Los animales así infectados presentan huevos en las heces a partir de los 21 a 23 días. Es la vía más importante de transmisión a los cachorros. La vía galactógena si bien es posible no tiene importancia como vía de contagio. En los hospedadores paraténicos o animales de transporte el parásito no evoluciona; sólo se mantiene viable y enquistado a la espera de ser ingerido por el hospedador indicado. Los hospedadores paraténicos pueden ser roedores, rumiantes, cerdos, pájaros, lombrices de tierra, moscas, otros invertebrados y también el hombre. Cuando un perro come un ratón o carne vacuna con la L3 enquistada, ésta se libera en el intestino y realiza toda su evolución hasta adulto sin hacer ninguna migración. El diagnóstico presuntivo se basa sobre la reseña en la cual se relevan la edad ya que el cachorro es el enfermo clásico de toxocariosis y el sexo ya que la perra no suele estar enferma de toxocariosis aunque puede tener vermes adultos y eliminar huevos en el posparto. Los perros machos enteros en época de servicio, si viven en un ambiente contaminado, también pueden tener *Toxocara* adultos en el intestino y eliminar huevos aunque no estén clínicamente enfermos. Durante la anamnesis se pregunta: ¿La perra recibió desparasitaciones durante la gestación y la lactancia? ¿El cachorro eliminó parásitos espontáneamente en vómitos o heces? ¿Qué aspecto tenían los parásitos eliminados? Si es un macho en edad reproductiva ¿concorre a concursos? ¿Viajó últimamente? ¿Brindó muchos servicios? Si los pacientes son gerontes: ¿Tiene cáncer? ¿Se encuentra bajo tratamiento quimioterápico o se le administran fármacos inmunosupresores? Hay que recordar que la signología más abundante se presenta en los cachorros de 1 a 3 meses de edad y que las lesiones pueden variar mucho según el número de parásitos presentes. Los signos clínicos generales son: mal estado general, falta de crecimiento, pelo seco, opaco e hirsuto; debilidad, deshidratación y alteraciones en la calcificación. Los signos clínicos gastrointestinales son: abdomen abalonado, vómitos, diarrea y constipación alternadas, flatulencias, cólicos, obstrucciones y algunos animales pueden presentar aliento butiroso. Puede dar además intususcepción en cachorritos. Los

signos respiratorios son: tos y en ocasiones aumento de la secreción nasal (serosa, no purulenta). Los signos nerviosos son: intranquilidad y ataques epileptiformes. El origen de tales síntomas no es completamente conocido, pero se sugieren varias causas entre ellas lesiones focales en el sistema nervioso central y con más frecuencia, disturbios metabólicos en parasitosis muy elevadas (hipoglucemia e hipocalcemia). Durante el diagnóstico epidemiológico, además del rol de la madre, el estar en contacto con suelos donde pueda haber huevos larvados nos hace sospechar la posibilidad de haber contraído la infestación. El diagnóstico de certeza se efectúa mediante el análisis coproparasitológico, el cual puede realizarse por medio de varias técnicas que permiten la observación de los huevos y su diferenciación. Tratamiento: si la consulta es por una camada en lactación, la primera desparasitación debe realizarse a los 15 días de vida de los cachorros y en forma conjunta se trata a la madre. A los 30 y 45 días, deberán recibir nuevamente tratamiento todos los animales. Los fármacos antiparasitarios actualmente disponibles no actúan sobre las L3 y L4 que se encuentran en el parénquima hepático o pulmonar, pero sí tienen efectos sobre aquellas que están en la circulación, la tráquea o los bronquios. Por eso se realizan dosificaciones repetidas. En los cachorros se deberá repetir la dosificación a los 60, 75, 90 días. Si son cachorros de razas pesadas se seguirá hasta los 4 meses. En cachorros de más edad se requerirán exámenes coproparasitológicos para verificar la necesidad de tratamiento antiparasitario. En el caso que el clínico reciba el cachorro a consulta a los 3-4 meses o más, se realiza la primera desparasitación, se repite a los 15 y a los 30 días, para luego proceder según la metodología antes mencionada. La repetición del tratamiento se relaciona con el período prepatente de cada parásito y no es sinónimo de posología que tiene que ver con el fármaco utilizado. El pamoato de pirantel es de elección en cachorros de corta edad y la dosis es de 14,5 mg/kg. Sin embargo, cuando las cargas parasitarias son muy elevadas (en cachorritos con el abdomen muy distendido y de talla pequeña) puede ser útil dar dos tomas el primer día (con la mitad de la dosis cada 12 horas) y el segundo día la dosis total de 14,5 mg /kg. Hay que tener la precaución de no subdosificar (usar por ej. 7 mg/kg) pues disminuye la efectividad del 98 al 85 %. Si se utiliza expresado como pirantel base la dosis es de 5 mg /kg. Los bencimidazoles tales como fenbendazol, flubendazol, sus precursores y otros dan muy buenos resultados y presentan la ventaja de cesar la oviposición. Si bien muchos productos bencimidazoles que están a la venta preconizan el uso de una sola toma, se han evidenciado diferencias significativas en el éxito del tratamiento cuando se suministran los productos tres días seguidos, cada 24 horas. Las disquisiciones en torno a los porcentajes de eficacia tienen singular valor en esta parasitosis donde los parásitos eliminan un alto número de huevos y la contaminación del medio ambiente con ellos supone un riesgo zoonótico para los niños que estén en contacto con huevos que hayan evolucionado a su estadio infectante. La dosis del fenbendazol es de 50 mg/kg/día. El fenbendazol es considerado como uno de los más eficaces bencimidazoles para destruir estados larvales causantes de la toxocariosis prenatal. Se utiliza para el tratamiento de hembras preñadas a partir del día 42 y durante la lactancia así la carga parasitaria de los cachorros disminuye. Cuando los animales no pueden recibir medicación oral por presentar emesis (de distinto origen) la ivermectina inyectable es una herramienta de alguna utilidad para reducir la carga de vermes con una efectividad que no supera el 68 % y por lo tanto no la posiciona como fármaco de elección sino como una herramienta frente a un cuadro gastroentérico que cuando el enfermo haya superado la fase aguda del mismo y cesado la emesis deberá recibir otro tratamiento que elimine la totalidad de los parásitos. La mejor forma de evitar la toxocariosis es impedir que las larvas ingeridas lleguen a adormecerse, para ello contamos con antiparasitarios altamente efectivos como las combinaciones de ivermectina y pamoato de pirantel o milbemicina oxima (0.7-1 mg/kg). La moxidectina, por vía tópica, fue eficaz en el 99 % contra adultos inmaduros y entre el 98-99 % contra la L4 por lo cual se recomienda su aplicación mensual. Podemos usar también selamectina que aplicada "spot on" a 6 mg/kg al día 50 de gestación fue capaz de reducir la carga parasitaria de los cachorros a los 24 días de nacidos en un 98 %. Respecto de los gatos, estos son afectados por *Toxocara cati* y las formas de infección y desarrollo de la parasitosis, así como su tratamiento son completamente diferentes, por ello no debe tratarse a los gatos como si fueran perros chiquitos. En el hombre, especialmente en los niños, la infección causada por larvas de *Toxocara canis* o *Toxocara cati* es el síndrome de "larva migrans", ocurre luego de la ingestión de huevos infectantes de los parásitos nombrados. El hombre actúa como hospedador accidental y paraténico dentro del ciclo. Los estudios de seroprevalencia en la población infantil correspondientes a las provincias de Chaco, Salta, Entre Ríos, Corrientes, Buenos Aires y Santa Fe, tienen una mediana del 49.89 %, un valor mínimo de 20.4 % en niños de Salta y máximo de 67.7 % en niños de Corrientes y Chaco. La migración de las larvas, a su vez, se relaciona con el número de huevos ingeridos, el estado inmune del individuo y la respuesta a la parasitosis. Este proceso tiene alta prevalencia en individuos que habitan zonas carenciadas.

Referencias bibliográficas

Lee A et al. Epidemiologic and zoonotic aspects of ascarid infections in dogs and cats. Trends in Parasitology. Vol 26, Issue 4. April 2010:155-161.

-Mihalca A; Pérez Tort G et al. TroCCAP guidelines canine Endoparasites. 2018. www.troccap.com

-Pérez Tort G. Enfoque clínico de las enfermedades parasitarias del perro y del gato. 2° Edición. Intermédica. 2022 (en prensa).

Gabriela Pérez Tort. Méd. Vet., Esp. en Docencia, Esp. Clínica en Caninos y Felinos y Esp. en Parasitol y Enf. Parasitarias. Es Profesional “Cat Friendly” de la “International Society of Feline Medicine”.



DEMODICOSIS CANINA

Pérez Tort Gabriela

Hospital Veterinario de Virreyes, Provincia de Buenos Aires, Argentina

gabrielapt@gmail.com

Mucha agua ha corrido bajo los puentes y mucha tinta se ha gastado desde que Georgi escribió: “La sarna demodéctica es a menudo difícil de aliviar y quizás imposible de curar”. En la actualidad el nombre de la enfermedad ha cambiado, una nueva especie de *Demodex* se ha descrito, muchos mecanismos de la enfermedad han sido elucidados y se han desarrollado tratamientos efectivos. La demodicosis canina es la enfermedad parasitaria cutánea más importante de los perros jóvenes y es la sexta enfermedad cutánea canina más común. Se asume que *Demodex canis* pasa de las madres infectadas a los recién nacidos, esto se presenta ya sea porque la madre esté clínicamente enferma o sea portadora al momento del parto, y es el único momento de la vida en el cual se produce la transmisión de los ácaros de un animal a otro. El ciclo biológico transcurre completamente en el hospedador y son ácaros específicos de hospedador. El ciclo biológico del *Demodex injai* aparentemente es igual al de *Demodex canis*, involucrando los mismos estadios. La demodicosis generalizada es una enfermedad compleja. La de comienzo juvenil resulta de una deficiencia *Demodex* específica de los linfocitos T y consiste en la expresión de un gen autosómico recesivo. La de comienzo adulto está asociada a la inmunosupresión asociada a alguna enfermedad subyacente. El prurito ocasionalmente acompaña a las lesiones escamosas. Hay que destacar que si bien no es frecuente, *Demodex* puede producir prurito cuando las lesiones están complicadas con bacterias. En mayor o menor medida todos los pacientes con piodemodicosis padecen dolor. Entre los signos generales se describen: anorexia, letargo depresión, fiebre y linfadenopatía generalizada o en ganglios submaxilares. El paciente puede presentar estados de septicemia y shock endotóxico. Las lesiones macroscópicas son: alopecia focal por la colonización de la piel por *Demodex* con excesiva pérdida de pelos enteros, lesiones escamosas eritematosas que pueden ser localizadas, o generalizadas, lesiones escamosas con descamación e hiperpigmentación. En la raza Shar Pei es común que la enfermedad se presente como foliculitis demodéctica y pueden encontrarse cilindros foliculares o comedones. En algunos casos hay máculas eritematosas o escamas. Las lesiones complicadas con piodermia secundaria presentan pústulas y pápulas. También puede manifestarse otitis con presencia de *Demodex* en el exudado. Las alteraciones microscópicas son alteración de los folículos pilosos con reacción inflamatoria en la mitad de los casos evaluados. Las lesiones se caracterizan por: dilatación del folículo piloso con ácaros, foliculitis, perifoliculitis y forunculosis. La mayor parte de los folículos pilosos se dilata con la presencia de los ácaros y esto lleva a la subsecuente foliculitis, en el Shar Pei por lo general la enfermedad se presenta como foliculitis demodéctica. Son comunes la foliculitis supurativas, la forunculosis y la dermatitis nodular. El diagnóstico se basa sobre el hallazgo de los ácaros en sus distintos estadios. No hay demodicosis sin *Demodex*. El raspado de piel tradicional debe realizarse con una hoja de bisturí desafilada colocando una gota de vaselina sobre la piel y/o sobre la hoja de bisturí y debe ser lo bastante profundo para producir sangrado capilar, que se visualizará como puntillado hemorrágico. En caso de demodicosis pustulosa el material se obtiene comprimiendo las pústulas. En materia fecal los ácaros pueden ponerse en evidencia mediante técnicas de flotación. Cuando el diagnóstico presuntivo es demodicosis pero los raspados son negativos será necesario realizar biopsia para poner en evidencia a los ácaros. Todo perro con demodicosis de comienzo adulto debe ser evaluado exhaustivamente para identificar enfermedades predisponentes, subyacentes o concurrentes. Para el tratamiento hace 20 años comenzó a utilizarse con éxito la moxidectina por vía oral. La formulación “spot on” desarrollada por Bayer en sus comienzos fue indicada en forma mensual, pero se ha demostrado que su eficacia aumenta con la frecuencia de aplicación, siendo la dosificación semanal significativamente mejor en cuanto a la reducción del número de ácaros y de las lesiones. En otro trabajo el tratamiento con moxidectina tópica aplicada una vez por semana permitió la cura de 11 caninos de un total de 17 tratados. Las isoxazolininas son drogas que actúan de forma sistémica y antagonistas no competitivos de los receptores GABA acoplándose a los canales de cloro; como consecuencia se genera una estimulación nerviosa en el artrópodo y la muerte. No es sustrato de la glicoproteína P. Por ello, las isoxazolininas pueden combinarse con lactonas macrocíclicas. Afloxolaner: dosis

2,7-6,9 mg/kg mensual. Sarolaner: la más rápida y de probada eficacia en demodicosis dosis de 2 a 4 mg/kg. Fluralaner: es la primera de las isoxazolinas utilizada para tratar la demodicosis, sin embargo es mucho más lenta. Respecto de la dosificación: se puede utilizar mensual a la dosis de 10 a 20 mg/kg en lugar de la trimestral de 25 a 56 mg/kg (mucho más exigente para el hígado). La dosificación deberá mantenerse hasta alcanzar la cura parasitológica que se determina por los raspados negativos, y se lo deberá mantener por dos meses después de obtener raspados negativos en 6 lugares, no hay un tiempo teórico, depende de cada paciente y del resultado de los raspados, no sólo de la falta de lesiones. Puede ser de tres, cuatro o seis meses. Si esto no se cumple la enfermedad puede recidivar. En los casos de piodermia se deberán implementar los tratamientos antibacterianos que correspondan y todos los pacientes deberán ser correctamente valorados en la profundidad de su desbalance cutáneo y general para indicar los tratamientos de sostén acordes a si se trata de enfermos leves, moderados o graves. Los glucocorticoides están totalmente contraindicados. La demodicosis puede ser causada por *Demodex injai* que es un ácaro mucho más largo que *Demodex canis* y vive en la piel dentro de los folículos pilosos, especialmente dentro de las glándulas sebáceas. No se ha demostrado su presencia en otros órganos o en los ganglios linfáticos. Las lesiones presentes en los pacientes afectados por *Demodex injai* consisten en alopecia, seborrea oleosa y grasicidad extrema en el manto, especialmente en dorso lomo, tronco y cara. El prurito es un hallazgo frecuente. Esto ocurre porque muchos perros sufren simultáneamente enfermedades alérgicas. Además son frecuentes la piodermia asociada y los sobrecrecimientos de *Malassezia pachydermatis*. Por este motivo sumadas a estas manifestaciones, suelen verse lesiones indicativas de piodermia o de sobrecrecimiento de *Malassezia pachydermatis* (placas seborreicas oleosas adheridas a la piel y olor seborreico fuerte). La técnica diagnóstica es equivalente a los raspados cutáneos para diagnosticar la demodicosis por *Demodex canis*. Como *Demodex injai* es un parásito más profundo debe realizarse un pliegue cutáneo previo a realizar el raspado y apretarlo fuertemente. La medidas terapéuticas son las mismas que para *Demodex canis*. No es claro hasta cuándo debe continuarse la terapia en pacientes afectados por demodicosis por *Demodex injai* debido a que se desconoce la forma de interpretar los raspados cutáneos negativos. La recomendación actual, y hasta que exista más evidencia científica al respecto, es continuar la terapia hasta obtener 2 raspados cutáneos negativos consecutivos separados 30 días.

Referencias bibliográficas

Beugnet F et al. Efficacy of oral afoxolaner for the treatment of canine generalized Demodicosis Parasite. 10 March. 2016.

Becskei Csillaet et al. Efficacy and safety of sarolaner against generalized demodicosis in dogs in European countries: a non-inferiority study Veterinary dermatology Volume29, Issue3 June 2018 Pages 203-e72.

Manzuc P, Demodicosis canina por *Demodex injai*: reporte de 3 casos, en proceedings del 12mo Congreso Nacional de AVEACA (Asociación de Veterinarios Especializados en Animales de Compañía de Argentina), Buenos Aires, Argentina, septiembre de 2012.

Mihalca A; Pérez Tort G. et al TroCCAP guidelines Ectoparasites. 2022. www..troccap.com

Mueller RS, Rosenkrantz W, Bensignor E, Karaś-Tęcza J, Paterson T, Shipstone M. Diagnosis and treatment of demodicosis in dogs and cats: Clinical consensus guidelines of the World Association for Veterinary Dermatology Vet Dermatol 2020; 31: 4–e2.

Pérez Tort G et al. Demodicosis canina y felina. 2006. Intermédica, Buenos Aires.

Pérez Tort G. Enfoque clínico de las enfermedades parasitarias del perro y del gato. 2022 (en prensa).

Ravera I, Altet L, Francino O et al. Development of a real-time PCR to detect *Demodex canis* DNA in different tissue samples. Parasitol Res 2011; 108:305–308.

Sastre N et al. Phylogenetic relationships in three species of canine *Demodex mite* based on partial sequences of mitochondrial 16S rDNA. Vet Dermatol 23, 509-e101.

Vogelnest L, Garibotto V. Evaluation of the squeeze tape impression for the diagnosis of canine demodicosis. Vet Dermatol 2016; 27 (Suppl 1):38.