

XXIII REUNIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA

ASOCIACIÓN ARGENTINA DE VETERINARIOS DE LABORATORIOS DE DIAGNÓSTICO



Romanela Beatriz Marcellino y Nirma Alicia González
Editoras

Fundada el 21 de noviembre de 1984

Personería jurídica 439/96

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



17, 18 y 19 de noviembre 2021 - Modalidad virtual

***Asociación Argentina de Veterinarios
de Laboratorios de Diagnóstico***

XXIII Reunión Científico Técnica

Resúmenes

Romanela Beatriz Marcellino y Nirma Alicia González
Editoras

Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico
XXIII Reunión Científico Técnica: 17, 18 y 19 de noviembre 2021: modalidad virtual / editado
por Romanela Beatriz Marcellino; Nirma Alicia González.
1a ed. - Balcarce: Asoc. Argentina de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico, 2021.
Libro digital, PDF

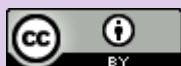
Archivo Digital: descarga y online
ISBN 978-987-21667-3-1

1. Veterinaria. 2. Medicina Veterinaria. 3. Educación Superior. I. Marcellino, Romanela
Beatriz, ed. II. González, Nirma Alicia, ed. III. Título.
CDD 636.08907

© Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico, 2021.

Primera edición: noviembre de 2021

ISBN 978-987-21667-3-1



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

PRESIDENTE

Nirma Alicia Gonzalez

Ex Jefa Laboratorio SENASA Santa Fe
nirmago55@gmail.com
nirmago@arnet.com.ar

VICEPRESIDENTE

Sergio Garbaccio

Laboratorio Micobacterias
Ins. Patobiología, CICVyA, INTA – Hurlingham
garbaccio.sergio@inta.gob.ar

SECRETARIA

Maria Aldana Vissani

Instituto Virología, INTA Castelar
vissani.aldana@inta.gob.ar
vissani.aldana@gmail.com
aldana.vissani@usal.edu.ar

TESORERA

Patricia Llorente

Ex docente Facultad Cs. Facultad Veterinarias UBA
patricia.llorente@gmail.com

VOCALES TITULARES

Enrique María Trabattoni

Laboratorio Centro Veterinario.
Brig. López 25 (3080) Santa Fe, Esperanza, Santa Fe
laboratorio@esperanzadistri.com.ar
enriquetrabattoni@hotmail.com

Raúl Eduardo Marin

Universidad Nacional de Jujuy
raulemarin@hotmail.com

Agustín Martinez

INTA Bariloche
martinez.agustin@inta.gob.ar

Diana Elina Martinez

Fac. Cs. Veter. UNNE, Sgo Cabral 2139 (3400),
Corrientes Cap.
dianaelina.dm@gmail.com

REVISORES DE CUENTA TITULARES

Sebastián Alejandro Elena

Dpto. Brucelosis Laboratorio Central SENASA
selena@senasa.gob.ar

María Laura Chiapparrone

Fac. Cs. Vet. UNCPBA, Paraje Arroyo Seco S/N Tandil
mlchiapparrone@gmail.com
mlchiapparrone@vet.unicen.edu.ar

VOCALES SUPLENTE

Jimena Saez

Lab. Diag. Veterinario.
Municipalidad de San Salvador de Jujuy
vetlabsaez@hotmail.com

Vilma Noelia Disalvo

Laboratorio Sanidad Animal.
Tierra del Fuego
vilmadisalvo@hotmail.com

Sofia Rossi

Cat. Analisis Clínicos. UNRC y laboratorio Maffrand
sofiarossicolombo@hotmail.com

Silvia Patricia Cardozo

Laboratorio Regional SENASA Salta
scardozo@senasa.gob.ar

REVISORES DE CUENTA SUPLENTE

Romanela Marcellino

INTA Bariloche
marcellino.romanela@inta.gob.ar

Carla Pertile

INTA EEA Mercedes Corrientes
carlapertile10@hotmail.com

Comité revisor

DR. PEDRO SOTO

DR. CARLOS ROBLES

DR. CARLOS ROSSANIGO

DR. ERNESTO SPATH

DRA. GRACIELA DRAGHI

DRA. ELVIRA FALZONI

DRA. CARMEN MAFFRAND

DRA. MARÍA JOSÉ DUS SANTOS

DRA. MARÍA BARRANGEGUY

DR. RAÚL MARIN

DRA. MARÍA CORIA

DR. AGUSTÍN MARTÍNEZ

DRA. GABRIELA GIACOBONI

DRA. VALERIA RUMI

DR. JAVIER SCHAPIRO

-

UN AGRADECIMIENTO MUY ESPECIAL
A LA DRA. ROSANA MATTIELLO Y AL DR. RAMÓN NOSEDA

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

INSTITUCIONES AUSPICIANTES:



RESOLUCIONES Y NOTAS DE AUSPICIOS:

RESOLUCIÓN N° 3562/2021 REC. 1070981-21 RECTORADO DE UNIV. NACIONAL DEL LITORAL (UNL)

RESOLUCIÓN RECTORAL N° 667/2021- UNIV. CATÓLICA SALTA (UCASAL)

RESOLUCIÓN N° 047/2021 FAC. CS VETERINARIAS-UNIV. NACIONAL CENTRO PROV. BUENOS AIRES (UNCPBA)

RESOLUCIÓN RESCD-2021-435-E-UBA-DCT_FVET-FAC. CS VETERINARIAS-UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES (UBA)

RESOLUCIÓN RECTORAL N° 215/2021- UNIVERSIDAD DEL SALVADOR

RESOLUCIÓN N° 350/2021 FACULTAD CS VETERINARIAS- UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE (UNNE)

RESOLUCIÓN N° 587/2021- CD- FACULTAD CS VETERINARIAS-UNIV. NACIONAL DE LA PLATA (UNLP)

RESOLUCION 538/2021 APN/PRES. DEL SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD Y CALIDAD AGROALIMENTARIA (SENASA)

NOTA N° 931/2021 COLEGIO MÉDICOS VETERINARIOS PROV. SANTA FE- 1° CIRCUNSCRIPCIÓN

NOTA FECHA 24/06/2021 SOCIEDAD DE MEDICINA VETERINARIA

NOTA N° 31/2021 FEDERACIÓN VETERINARIA ARGENTINA (FEVA)

NOTA N° 155/2021 COLEGIO VETERINARIOS PROV. CHUBUT

RESOLUCIÓN 1036/2021 APN CD -INSTITUTO NACIONAL TECNOLOGIA AGROPECUARIA (INTA)

EMPRESAS E INSTITUCIONES PATROCINANTES:



0358 4630316 ☎ 3584308081

Pasaje Roosevelt 1055
Río Cuarto - Córdoba



ÍNDICE

	Páginas
EDITORIAL	18
RESÚMENES DE CONFERENCIAS	19
ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LOS RESÚMENES PRESENTADOS EN LAS ULTIMAS 10 REUNIONES CIENTÍFICO-TÉCNICAS DE LA AAVLD, 2002-2021	37
RESÚMENES DE TRABAJOS CIENTÍFICOS	41
<u>TRABAJOS ORIGINALES</u>	42
BACTERIOLOGÍA	
B1-CONTAMINACIÓN DE <i>ESCHERICHIA COLI</i> PRODUCTOR DE TOXINA SHIGA EN CARNE BOVINA DE TIERRA DEL FUEGO Y RELACIÓN CON LA PRESENCIA DE RESIDUOS DE ANTIMICROBIANOS	43
B2-FRECUENCIA DE AISLAMIENTO DE BACTERIAS QUE PRODUCEN INFECCIONES EN LAS VÍAS URINARIAS EN CANINOS	44
B3-ESTUDIO SEROEPIDEMIOLÓGICO DE LA INFECCIÓN POR <i>LEPTOSPIRA</i> SPP. EN EQUINOS DEL SUR DE LAS PROVINCIAS DE SANTA FE Y CÓRDOBA	45
B4-GENOTIPOS DE <i>MYCOBACTERIUM BOVIS</i> AISLADOS DE ANIMALES DOMÉSTICOS Y SILVESTRES DE LA REPÚBLICA ARGENTINA: ESTUDIO RETROSPECTIVO	46
B5-ARTRITIS EN TERNERAS CAUSADAS POR MYCOPLASMA	47
B6-DETECCIÓN DE <i>CLOSTRIDIUM PERFRINGENS</i> EN EL INTESTINO DE <i>APIS MELLIFERA</i> (HYMENOPTERA: APIDAE)	48
B7-COMPARACIÓN DE TÉCNICAS SEROLÓGICAS CONVENCIONALES PARA LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ANTI-BRUCELLA EN <i>ZAEDYUS PICHII</i>	49
B8-TUBERCULOSIS EN CABRAS: COMPARACIÓN DE TRES SECUENCIAS BLANCO DE PCR PARA LA DETECCIÓN DE <i>MYCOBACTERIUM BOVIS</i> EN LECHE	50
B9-RESULTADOS DEL CONTROL MICROBIOLÓGICO DE SEMEN BOVINO CRIOPRESERVADO	51
B10-MICOPLASMAS HEMOTRÓPICOS FELINOS EN EL ÁREA METROPOLITANA DE BUENOS AIRES	52

B11-ESTUDIO RETROSPECTIVO DE LEPTOSPIROSIS CANINA	53
B12-PRESENCIA DE <i>CLOSTRIDIUM PERFRINGENS</i> EN TRUCHA ARCOÍRIS <i>ONCORHYNCHUS MYKISS</i> DE CULTIVO EN PATAGONIA ANDINA	54
B13-DETECCIÓN DE MICOPLASMAS HEMOTRÓFICOS EN GATOS DE CONSULTORIO	55
B14-COMPARACIÓN DE DOS MÉTODOS DE AISLAMIENTO PARA EL MONITOREO DE <i>SALMONELLA</i> SPP. EN AVES DE PRODUCCION	56
B15-CASOS DE MICOPLASMOSIS EN BOVINOS DE DIFERENTES SISTEMAS PRODUCTIVOS EN LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES	57
B16-COLECCIÓN DE <i>Campylobacter fetus</i> SPP EN UN LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA VETERINARIA	58
B17-DETECCIÓN DE <i>Tritrichomonas foetus</i> y <i>Campylobacter fetus</i> spp., POR MÉTODOS CONVENCIONALES Y MOLECULARES A PARTIR DE TOROS INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE	59
B18-CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL AGUA EN ZONAS RURALES DEL PARTIDO DEL BALTARCE, PROVINCIA DE BUENOS AIRES	60
B19-AISLAMIENTO DE <i>SALMONELLA</i> SPP. EN CARNE DE POLLO DE VENTA AL PÚBLICO EN ENTRE RÍOS, ARGENTINA	61
B20-DETECCIÓN DE <i>PROTOTHECA</i> EN MUESTRAS DE LECHE DE TANQUE MEDIANTE EL USO DEL MEDIO DE CULTIVO <i>PROTOTHECA ISOLATION MEDIUM</i> (PIM)	62
B21-ESTADO ACTUAL DE LAS COLECCIONES DE MICROORGANISMOS VINCULADAS A SANIDAD ANIMAL Y/O PÚBLICA PRESENTES EN EL INTA	63
B22-PARATUBERCULOSIS EN UN TAMBO CAPRINO DEL NOROESTE ARGENTINO	64
 ENFERMEDADES METABÓLICAS Y CARENCIALES	
M1-CASO DE HIPOFOSFATEMIA EN UN CAMPO DE LA PROVINCIA DE CORRIENTES	66
M2-HIPOCUPROSIS SEVERA EN UN RODEO DE LA MESETA CENTRAL DE SANTA CRUZ, ARGENTINA	67
 EPIDEMIOLOGÍA	
E1-EVALUACIÓN DE DOS TÉCNICAS PARA EL DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS BOVINA EN MUESTRAS DE FAENA, BACTERIOLOGÍA Y PCR DE TEJIDOS	69

E2-ESTUDIO PRELIMINAR DE LA PRESENCIA DE <i>BRUCELLA SUI</i> S Y <i>VIRUS DE AUJESZKY</i> EN PRODUCCIONES PORCINAS DE LA PROVINCIA DE LA PAMPA, ARGENTINA	70
E3-SEROPREVALENCIA DE BRUCELOSIS CAPRINA EN EL IMPENETRABLE CHAQUEÑO: RESULTADOS PRELIMINARES	71
E4-VIRUS DE LA LEUCOSIS BOVINA: ¿UN PROBLEMA EN RODEOS BOVINOS DE CARNE?	72
E5-INFECCIÓN POR <i>Trichinella</i> spp. EN JABALÍES (<i>Sus scrofa</i>) Y EXPOSICIÓN EN CONSUMIDORES DE CARNE DE CAZA DEL PARQUE NACIONAL EL PALMAR, ARGENTINA	73
E6-VIGILANCIA EPIDEMIOLOGICA DE BRUCELOSIS BOVINA DURANTE EL PERIODO 2020-2021 EN LA CUENCA LECHERA DE TRANCAS, TUCUMAN	74
E7-MORBILIDAD Y MORTALIDAD EN TERNERAS DE RODEOS LECHEROS CON MANEJO INTENSIVO DEL CALOSTRADO	75
E8-VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA DE TUBERCULOSIS: ¿PUEDE EL ENGORDE A CORRAL BRINDAR INFORMACIÓN ADICIONAL?	76
E9-ESTUDIO SEROLÓGICO DE LEPTOSPIRA SPP. EN PORCINOS DE LAS PROVINCIAS DE BUENOS AIRES Y DE LA PAMPA, ARGENTINA	77
E10-ANAPLASMOSIS EN LA CUENCA LECHERA DE VILLA MARÍA, CÓRDOBA	78

INMUNOLOGÍA

I1-PROPUESTA DE REVISIÓN DEL PUNTO DE CORTE PARA LA TÉCNICA DE POLARIZACIÓN FLUORESCENTE EN EL DIAGNÓSTICO DE BRUCELOSIS EN BÚFALOS	80
I2-ASOCIACION ENTRE LA DENSIDAD OPTICA Y HALLAZGOS <i>POST MORTEM</i> COMPATIBLES CON TUBERCULOSIS EN BOVINOS POSITIVOS AL TEST DE ELISA	81
I3-CONCORDANCIA ENTRE HEMAGLUTINACIÓN INDIRECTA E INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA PARA EL DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO DE <i>Toxoplasma gondii</i> EN CABRAS EN SALTA, ARGENTINA	82
I4-SEROPREVALENCIA A <i>Neosporacanthium</i> EN VALLES CENTRALES Y CALCHAQUÍES DE LA PROVINCIA DE SALTA, ARGENTINA	83
I5-COMPARACIÓN ENTRE UN ELISA ESPECÍFICO DE <i>LEPTOSPIRA</i> SPP Y LA PRUEBA MAT PARA MONITOREAR LA RESPUESTA DE ANTICUERPOS VACUNALES EN BOVINOS	84
I6-DESARROLLO DE UN ELISA DE INHIBICIÓN COMPETITIVO PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA BRUCELOSIS EN BOVINOS, RESULTADOS PRELIMINARES	85
I7-EXPERIENCIA A CAMPO DE VARIACIONES EN LA RESPUESTA CELULAR Y HUMORAL	86

EN TUBERCULOSIS BOVINA

I8-RESPUESTA INMUNE FRENTE A ANTÍGENOS RECOMBINANTES EN BOVINOS EXPERIMENTALMENTE INFECTADOS CON MICOBACTERIAS AMBIENTALES	87
I9-DESCRIPCIÓN DE LA EVOLUCIÓN DE TUBERCULOSIS EN RODEOS LECHEROS COMBINANDO EL USO DE IDR Y ELISA	88
I10- EVALUACIÓN DE UN ELISA DE COMPETICION PARA DETECCION DE ANTICUERPOS ANTI- <i>NEOSPORA CANINUM</i> EN BOVINOS Y BUBALINOS	89

PARASITOLOGÍA

P1-DINÁMICA DE ANTICUERPOS ANTI- <i>TOXOPLASMA GONDII</i> DURANTE LA GESTACIÓN Y LACTANCIA EN CABRAS NATURALMENTE INFECTADAS	91
P2-FASCIOSIS CLÍNICA EN OVINOS DEL ALTIPLANO DE JUJUY, ARGENTINA	92
P3-EVALUACIÓN DE SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE UNA PRUEBA INTRADÉRMICA PARA DETECCIÓN DE ANIMALES INFECTADOS CON <i>NEOSPORA CANINUM</i>	93
P4-CARACTERIZACIÓN CLÍNICA DE LA SARNA SARCÓPTICA (<i>SARCOPTES SCABIEI</i> VAR. <i>AUCHENIAE</i>) EN LLAMAS (<i>LAMA GLAMA</i>) EN LA PROVINCIA DE JUJUY, ARGENTINA	94
P5-DIAGNÓSTICO DE <i>LAGOCHILASCARIS</i> SPP. EN UN FELINO DOMÉSTICO DE BUENOS AIRES	95
P6-DIAGNÓSTICO DE <i>TRITRICHOMONAS FOETUS</i> MEDIANTE CULTIVO MICROBIOLÓGICO VERSUS LA CONFIRMACIÓN TAXONÓMICA DE LOS AISLAMIENTOS POR PCR	96
P7-TRANSMISIÓN DE <i>CRYPTOSPORIDIUM</i> SP. EN ESTABLECIMIENTOS LECHEROS DE LUJÁN, BUENOS AIRES, ARGENTINA	97
P8-PRIMERA DETECCIÓN MOLECULAR DE <i>TOXOPLASMA GONDII</i> EN VISÓN AMERICANO (<i>NEOVISON VISON</i>) EN ARGENTINA	98
P9-ESTRUCTURA Y DINÁMICA POBLACIONAL DE CARACOLES <i>LYMNAEA</i> EN PRECORDILLERA DE RIO NEGRO, PATAGONIA	99
P10-PRIMER REPORTE MICROSCÓPICO Y MOLECULAR DE <i>Babesia vogeli</i> EN YERBA BUENA (TUCUMÁN) Y CONCORDIA (ENTRE RÍOS)	100
P11-IDENTIFICACIÓN INMUNOPROTEÓMICA DE PROTEÍNAS SOLUBLES INMUNODOMINANTES DEL PROTOZOARIO <i>SARCOCYSTIS AUCHENIAE</i>	101

P12-DETECCIÓN DE UNA PRESUNTA NUEVA ESPECIE DE <i>HEPATOZOOM</i> SPP. EN EUROPA CENTRAL	102
P13- <i>TRYPANOSOMA VIVAX</i> , PREVALENCIA DE INFECCIÓN POST BROTE EN DOS RODEOS LECHEROS DE LA ZONA CENTRAL DE LA PROVINCIA DE SANTA FE	103
P14-DINÁMICA DE LAS ENDOPARASITOSIS EN CAPRINOS DEL NORTE NEUQUINO Y SU RELACIÓN CON LAS PRÁCTICAS SANITARIAS	104
P15-TRANSMISIBILIDAD DE LAS CEPAS DE <i>BABESIA BIGEMINA</i> Bbi M1A Y Bbi M1P POR UNA COLONIA DE <i>RHIPICEPHALUS MICROPLUS</i> : RESULTADOS PRELIMINARES	105

PATOLOGÍA CLÍNICA

PC1-HEMATOLOGIA EN LLAMAS (<i>LAMA GLAMA</i>) DE LA PROVINCIA DE JUJUY	107
PC2-EVALUACIÓN DE INDICADORES TEMPRANOS DE LESIÓN RENAL EN PERROS CON ENFERMEDAD VALVULAR MITRAL CRÓNICA (EVMC). RESULTADOS PRELIMINARES	108
PC3-DESCRIPCION DE UN CASO CLÍNICO POR MORDEDURA DE YARARÁ EN UN CANINO EN LA COSTA DEL RÍO DE LA PLATA	109
PC4-HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS EN BIOPSIAS GÁSTRICAS DE PERROS PORTADORES DE <i>HELICOBACTER</i> SPP.	110
PC5-DETECCIÓN DE TEJIDO LINFOIDE EN MUCOSAS DE FÁCIL ACCESO DE CAPRINOS PARA SU APLICACIÓN EN EL DIAGNÓSTICO DE SCRAPIE	111

PATOLOGÍA Y TOXICOLOGÍA

PT1-INTOXICACIÓN NATURAL POR <i>ASTRAGALUS PUNAE</i> EN LLAMAS (<i>LAMA GLAMA</i>) DE JUJUY	113
PT2-INTOXICACIÓN EN CAPRINOS POR CONSUMO DE FARDOS CONTAMINADOS CON <i>PASCALIA GLAUCA</i> EN JUJUY	114
PT3-PRESUNTO BROTE DE ABORTO BOVINO POR CONSUMO DE <i>Pinus spp.</i> EN LA PROVINCIA DE CHUBUT, ARGENTINA	115
PT4-PERFIL TOXICOLÓGICO DE GRAMÍNEAS NATIVAS INVOLUCRADAS EN BROTES DE “MAL DE HUECÚ” EN LA PATAGONIA ARGENTINA	116
PT5-INTOXICACIÓN POR CARBOXIN EN BOVINOS LECHEROS EN JUJUY, ARGENTINA	117
PT6-CARACTERIZACIÓN DE ENDÓFITOS <i>EPICHLÖE</i> PRESENTES EN <i>FESTUCA ARGENTINA</i> DE LA PATAGONIA ARGENTINA	118

PT7-MORTANDAD EN VACAS POR <i>Stenocarpella maydis</i> EN EL SUR DE LA PROVINCIA DE CÓRDOBA	119
---	-----

RESISTENCIA ANTIMICROBIANA

R1-RESEÑA SOBRE LA CIRCULACION DE <i>Staphylococcus aureus</i> RESISTENTES A LA METICIILINA MULTIRRESISTENTES EN ESTABLECIMIENTOS PORCINOS DE CRÍA INTENSIVA DE LA REPUBLICA ARGENTINA	121
R2- <i>Escherichia coli</i> RESISTENTES A ANTIMICROBIANOS DE IMPORTANCIA CRÍTICA PARA LA SALUD PÚBLICA, AISLADOS DE CERDOS DE LA REPÚBLICA ARGENTINA	122
R3-EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DEL TRICLABENDAZOL COMO FASCIOLICIDA EN CAPRINOS EN LA PROVINCIA DE NEUQUÉN ARGENTINA	123
R4-CEPA DE <i>MYCOBACTERIUM AVIUM</i> RESISTENTE A ANTIBIÓTICOS AISLADA DE UN FELINO DOMÉSTICO CON MICOBACTERIOSIS DISEMINADA	124
R5-RESISTENCIA IN VITRO DE <i>PSOROPTES OVIS</i> A IVERMECTINA EN ARGENTINA	125

VIROLOGÍA

V1-ANÁLISIS PRELIMINAR DE LA APOPTOSIS INDUCIDA POR BoHV-4 EN CÉLULAS ENDOMETRIALES BOVINAS EN PRESENCIA DE INFECCIÓN NATURAL CON VDVB	127
V2-ZOONOSIS POR PARAPOXVIRUS: DIAGNÓSTICO E IDENTIFICACIÓN DE PSEUDOCOWPOX (PCPV)	128
V3-DESARROLLO DE UNA TÉCNICA DE RT-qPCR PARA LA DETECCIÓN DE PESTIVIRUS BOVINOS	129
V4-PROCESAMIENTO DE MUESTRAS DE SANGRE SEMBRADAS EN PAPELES DE FILTRO PARA LA DETECCIÓN Y CONSERVACIÓN DEL VIRUS DE LA DIARREA VIRAL BOVINA	130
V5-DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE BRONQUITIS INFECCIOSA AVIAR EN GRANJAS DE GALLINAS PONEDORAS DE HUEVOS COMERCIALES DE LA PROVINCIA DE TUNGURAHUA, ECUADOR	131
V6-ENFERMEDAD DE AUJESZKY: PERFIL SEROLÓGICO EN UNA GRANJA EN SANEAMIENTO CON VACUNACIÓN	132
V7-ESTOMATITIS PAPULAR BOVINA EN TERNEROS DE UN TAMBO EN LA PROVINCIA DE CÓRDOBA	133

V8-CORONAVIRUS CANINO COMO VIRUS MODELO PARA LA EVALUACION DE ACTIVIDAD ANTIVIRAL DE PRODUCTOS	134
--	-----

V9-DIARREA EN LECHONES: ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LOS CASOS REMITIDOS AL CENTRO DE MICROBIOLOGÍA BÁSICA Y APLICADA (CEMIBA) EN EL PERÍODO 2021	135
--	-----

V10-PUESTA A PUNTO DE UNA PCR EN TIEMPO REAL PARA LA DETECCIÓN DE DNA DEL PARVOVIRUS EQUINO-HEPATITIS (EqPV-H)	136
--	-----

MISCELÁNEAS

X1-VALORES HEMATOLÓGICOS DE GAVILANES MIXTOS (<i>Parabuteo unicinctus</i>) EN CAUTIVIDAD Y SILVESTRES QUE INGRESARON EN CUARENTENA. RESULTADOS PRELIMINARES	138
---	-----

TRABAJOS NO ORIGINALES

EPIDEMIOLOGÍA

E-I-DETECCIÓN DE <i>HELICOBACTER BIZZOZERONII</i> Y <i>HELICOBACTER FELIS</i> EN BIOPSIAS GÁSTRICAS DE PERROS	141
---	-----

E-II-TRANSFERENCIA DE INMUNIDAD PASIVA EN TERNEROS DE RODEOS LECHEROS CON CALOSTRADO NATURAL SUPLEMENTARIO	142
--	-----

INMUNOLOGÍA

IN-I-CARACTERIZACIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE MEDIADA POR CÉLULAS INDUCIDA POR LA PROTEÍNA PHOP EN LA INFECCIÓN POR <i>Mycobacterium bovis</i>	144
--	-----

PARASITOLOGÍA

P-I-TOXOPLASMOSIS CANINA. REPORTE DE UN CASO CLÍNICO EN LA ZONA SUR DEL CONURBANO BONAERENSE	146
--	-----

P-II-EVALUACIÓN DE UNA PRUEBA INTRADÉRMICA DE HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA EN VACAS HOLSTEIN NATURALMENTE INFECTADAS CON <i>Neospora caninum</i>	147
---	-----

P-III-DETECCIÓN DE SARNA SARCÓPTICA EN VICUÑAS SILVESTRES DE JUJUY, ARGENTINA	148
---	-----

RESISTENCIA ANTIMICROBIANA

R-I-PERFIL DE SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE CEPAS DE <i>Campylobacter fetus</i> DE ORIGEN REPRODUCTIVO	150
---	-----

VIROLOGÍA

V-I-EXANTEMA COITAL EQUINO: EL DIAGNÓSTICO POR PCR EN TIEMPO REAL COMO PARTE DEL CONTROL DE UN BROTE OCURRIDO EN YEGUAS SANGRE PURA DE CARRERA	152
V-II-CARACTERIZACIÓN GÉNICA DE G-TIPOS DE CEPAS DE ROTAVIRUS EQUINOS DETECTADAS EN ARGENTINA ENTRE 2016-2020	153
V-III-DETECCIÓN DE VIRUS EN APIARIOS UBICADOS EN REGIONES DE CLIMA FRÍO DENTRO DE LA PROVINCIA DE NEUQUÉN, ARGENTINA	154
V-IV-DETECCIÓN DEL VIRUS DE INFLUENZA EQUINA UTILIZANDO CRISPR-Cas12: RESULTADOS PRELIMINARES	155
V-V-ABORTOS POR ALFAHERPESVIRUS EQUINO 1 EN ARGENTINA: CARACTERIZACIÓN EN VARIANTES NEUROPATOGÉNICAS Y NO NEUROPATOGÉNICAS	156
V-VI-SITUACIÓN DE ARTERITIS VIRAL EQUINA EN LA ARGENTINA EN EL PERÍODO COMPRENDIDO ENTRE LOS AÑOS 2012–2021	157

EDITORIAL

La AAVLD celebrará por primera vez un Congreso virtual, en su versión número XXIII; una modalidad inédita para nosotros y a lo que tuvimos que adaptarnos. También por primera vez nuestra gestión se extendió a tres años, todo un desafío y durante el que tuvimos la mirada puesta en cumplir los objetivos fijados en nuestro Estatuto teniendo siempre presente que la llegada al Asociado debía ser fundamental. Por eso, se trabajó arduamente en la actualización de la base de datos y así logramos realizar cursos, talleres, jornadas y ahora nuestra XXIII Reunión Científica Técnica muy próxima a concretarse.

Agradecemos infinitamente a todos los actores que de una u otra manera harán posible llevar a cabo esta reunión; comenzando con los disertantes por el incondicional apoyo y aceptación a esta nueva modalidad que sin dudas con sus excelentes conferencias enaltecerán el nivel de la misma; a los autores de los trabajos científicos que a pesar de la situación difícil que se atraviesa han dedicado su tiempo a la investigación y al aporte científico en apoyo al diagnóstico en salud; a los profesionales evaluadores de los mencionados trabajos que incondicionalmente nos han apoyado y dedicado su valioso tiempo en esta tarea de tanta responsabilidad; a las entidades auspiciantes por el apoyo y confianza en darnos su aval; a las varias empresas patrocinadoras que sin condiciones nos han brindado el respaldo y el apoyo económico fundamental para este logro; a los integrantes de las Comisiones Científicas que durante estos tres años han apuntalado nuestra Asociación; a los integrantes de la Comisión Directiva y Revisora de Cuentas por el compromiso, el esfuerzo, el entusiasmo y la resiliencia para enfrentar este nuevo desafío; a todos los asistentes asociados y no asociados que sin dudas harán un esfuerzo para asistir y a todas las personas que de alguna manera también harán su aporte.

Dra. Nirma Alicia González

Presidente

RESÚMENES DE CONFERENCIAS

LEPTOSPIROSIS BOVINA COMO ZOONOSIS

Dr. Ariel Alejandro Koval
Biogénesis Bagó, Garín, Provincia de Buenos Aires, Argentina
ariel.koval@biogenesibago.com

Casos humanos de leptospirosis en Argentina son reportados periódicamente en diferentes Provincias. La mayoría de las veces se trata de casos aislados que involucran un número relativamente reducido de personas. La enfermedad cobra mayor notoriedad cuando fallecen pacientes o son afectadas muchas personas, hecho que ocurre ante fenómenos climáticos extraordinarios, como lo fue la gran inundación de Santa Fe en el año 2003. En países tropicales donde se producen fuertes lluvias y tormentas estacionales anualmente, grandes inundaciones invariablemente traen aparejado el aumento de casos en humanos. Esto se explica porque diferentes especies de animales portadores eliminan leptospiras a un ambiente que favorece la sobrevivencia y dispersión de la bacteria. Personas que pasan mucho tiempo en el agua tienen un riesgo muchísimo más alto de infección, sumado a que la piel se reblandece y favorece el ingreso de la bacteria. *Leptospira* es una bacteria lábil si la orina infectada se seca rápidamente, lo que explica la disminución del riesgo de infección durante la estación seca. Otra condición que predispone a la aparición de brotes de la enfermedad es el aumento indiscriminado de alguna especie animal reservorio, por lo general roedores. Periódicamente factores ecológicos y/o biológicos permiten una multiplicación exacerbada de ratas u otros roedores, en general por un exceso de alimento, que favorecen la reproducción por encima de los niveles considerados normales. En Argentina quizás el fenómeno más conocido sea la multiplicación indiscriminada del ratón colilargo en la Patagonia, asociada a la floración periódica de la caña colihue. Si bien este fenómeno no involucra a la leptospirosis, dispara el aumento de casos de otra enfermedad grave producida por el hantavirus y resulta un buen ejemplo para explicar estos fenómenos. El riesgo de brotes graves es mayor si se combinan los factores. Como ejemplo se puede citar la Primera Guerra Mundial, que se caracterizó por ser una guerra de trincheras. Con la lluvia las trincheras se anegaban y se llenaban de agua y barro, las ratas se reproducían de manera descontrolada por exceso de alimento a partir de los cadáveres y constituían una verdadera plaga que directamente impedía dormir a las tropas. Hubo muchos soldados afectados por la “enfermedad de Weil” que, en ese contexto, probablemente fuera el “mal menor”. La leptospirosis es una enfermedad subdiagnosticada en todo el mundo. Leptospirosis leves se confunden con otras enfermedades como cuadros gripales y no se diagnostican. Los síntomas son inespecíficos y si no es frecuente en una región, muchos médicos naturalmente no la consideran en el diagnóstico diferencial. En nuestra región, a nivel veterinario, es una enfermedad conocida, tanto en pequeños como en grandes animales. Los perros que son llevados periódicamente a control veterinario suelen vacunarse con vacunas polivalentes que contienen la fracción leptospira. En el campo, es una enfermedad de alto impacto en la producción ganadera produciendo grandes pérdidas económicas debidas a tormentas de abortos y mortalidad de animales jóvenes. El ganado se suele vacunar con vacunas reproductivas que contienen uno o más serovares en su composición antigénica o directamente con vacunas específicas para prevenir la enfermedad en los animales. Sin embargo, su rol como agente zoonótico no es del todo conocido. Investigaciones que han sido publicadas demuestran que tambo y trabajadores rurales de importantes cuencas lecheras de Argentina tienen escaso conocimiento de las zoonosis en general y de la leptospirosis en particular. Tampoco son conocidas las vías de transmisión de los distintos agentes zoonóticos. En años recientes, el Servicio Técnico de Biogénesis Bagó intervino en 2 brotes de leptospirosis bovina donde se infectaron el dueño y 2 operarios en el primer caso y la responsable del tambo en el segundo. Todos los pacientes requirieron internación en terapia intensiva, lo que indica que se trató de cuadros severos, aunque no hubo que lamentar víctimas fatales. Ambos establecimientos lecheros no vacunaban, estaban en situación de inundación y, en uno de ellos, conviviendo los bovinos con cerdos. Se aisló la bacteria (serovar Pomona) en la mayoría de los animales muestreados (orina de vacas abortadas) y los cultivos fueron positivos antes de los 7 días. Esto da una idea de la cantidad de leptospiras que estaban siendo eliminadas al ambiente. Los bovinos son reservorios de algunas especies de leptospiras adaptadas a esta especie como *Leptospira borgpetersenii* serovar Hardjobovis y se infectan con serovares denominados incidentales o no adaptados como los serovares Pomona y Canicola. Si existen animales eliminando leptospiras por orina pocas actividades pueden ser más riesgosas que el trabajo en una fosa de ordeño. Y más aún si los operarios no conocen este riesgo, al que se exponen 2 veces por día durante los 365 días del año. Manos mojadas, mucosas sin protección, operarios trabajando por debajo del nivel de los animales que, con cada micción, generan aerosoles y microgotas en un ambiente húmedo. No es casualidad que países como Nueva Zelanda, donde la lechería es un pilar de la economía nacional, tengan un largo historial de trabajadores de tambos infectados por leptospiras. Pero la vacunación sistemática en tambos y criaderos de cerdos permitió disminuir los casos humanos de un pico de 875 pacientes infectados en 1974 a menos de 35 en 1997. La vacunación de los animales es la mejor y más probada herramienta para disminuir el riesgo de infección en los humanos que trabajan con ellos. Los Veterinarios que trabajan en lechería, que también son grupo de riesgo, pueden dedicar tiempo a concientizar a productores y capacitar operarios en relación con las zoonosis. Pueden diseñar los planes sanitarios e incluir la vacunación prolija y sistemática para prevenir leptospirosis. Pero no dejan de ser acciones individuales, un “trabajo de hormiga”. Si se pretende alcanzar a todos los establecimientos, el ejemplo de Nueva Zelanda puede ser analizado. Vacunas de calidad, con control de potencia oficial y aplicadas bajo un plan de vacunación obligatoria en los tambos pueden contribuir a disminuir las pérdidas que provoca esta enfermedad en los animales y cuidar a las personas que trabajan en estrecho contacto con ellos.

FORMULACIÓN DE UN DIAGNÓSTICO MACROSCÓPICO EN GRANDES Y PEQUEÑOS ANIMALES: CUANDO LAS LESIONES INDICAN LA POSIBLE PATOLOGÍA

Dr. Francisco A. Uzal
California Animal Health and Food Safety Laboratory. Faculty of Veterinary Medicine, University of California, Davis. San Bernardino
LabBranch, CA, US.
fauzal@ucdavis.edu

A-DEFINICIONES

Hay 4 definiciones fundamentales para tener en cuenta al momento de formular un diagnóstico macroscópico: 1) Diagnóstico morfológico; 2) Diagnóstico etiológico; 3) Etiología o causa y 4) Nombre de la enfermedad o condición.

1-Diagnóstico morfológico

El diagnóstico morfológico describe la lesión pero no identifica la causa. Por ejemplo: “enteritis granulomatosa difusa”, “bronconeumonía supurativa focal”.

Los tres modificadores indispensables para formular un diagnóstico morfológico son órgano, proceso y distribución. Los modificadores opcionales incluyen severidad y duración.

Modificadores indispensables

i) **Órgano:** el órgano afectado debe estar incluido o implicado en todo diagnóstico morfológico. Por ejemplo “enteritis”, “neumonía”, “necrosis hepática”.

ii) **Proceso:** los cuatro procesos fundamentales en la producción de enfermedad son: Inflamación, Necrosis/Degeneración, Neoplasia y Anomalías del desarrollo. Frecuentemente, sin embargo, más de uno de estos procesos fundamentales coexisten en una lesión. Por ejemplo, en la mayoría de los procesos inflamatorios hay cierto grado de necrosis y viceversa, muchas neoplasias presentan inflamación y necrosis, etc. Lo importante es determinar entre estos cuatro cual es el proceso primario y/o mayoritario y utilizar ese conocimiento para establecer el diagnóstico morfológico. Por ejemplo en una neumonía sabemos que el proceso primario es inflamatorio, aunque haya cierto grado de necrosis y por eso la llamamos neumonía y no necrosis pulmonar. En los casos de intoxicación por *Wedelia glauca* la lesión principal es necrosis hepática, a pesar de que siempre hay cierto componente inflamatorio y por eso llamamos a la lesión necrosis hepática y no hepatitis. A su vez, cada uno de estos cuatro procesos fundamentales en la producción de enfermedad se clasifican en distintos tipos como se explica a continuación.

Inflamación: la inflamación se clasifica de acuerdo al componente primario en supurativa, fibrinosa, granulomatosa, hemorrágica, necrotizante, proliferativa, linfoplasmocítica, ulcerativa y catarral. A veces se pueden usar combinaciones de dos o más de estos modificadores: por ejemplo “fibrino-supurativa”, etc.

Necrosis: las principales formas de necrosis son de coagulación, licuefactiva y caseosa.

Neoplasia: las neoplasias tienen su propio sistema de clasificación, cuya descripción va más allá del alcance de este artículo. Para establecer un diagnóstico morfológico de una neoplasia alcanza con mencionar la neoplasia y la ubicación. Por ejemplo “piel; carcinoma de células escamosas”, “infosarcoma renal”. Sin embargo, a veces pueden agregarse otros modificadores tales como focal o multifocal, primario o metastático, etc.

Anomalías del desarrollo: para los desordenes del desarrollo no hay modificadores específicos y se utilizan con frecuencia los nombres específicos de las anomalías, como por ejemplo “amelia”, “amorphus globosus”, “ciclopia”, etc.

iii) Distribución:

Focal: ubicación única y discreta.

Focal extensa: ubicación única y discreta de gran tamaño.

Multifocal: focos de ubicación múltiple y discreta separados por tejido normal.

Milliar, diseminada, embólica: es una variedad de la distribución multifocal y describe lesiones principalmente distribuidas por vía sanguínea.

Multifocal a coalescente: lesiones múltiples que se juntan para formar una lesión grande.

Difusa: involucra todo el tejido.

Unilateral/ bilateral/simétrica: estos modificadores se utilizan para describir distribución de lesiones en órganos pares o simétricos, como por ejemplo pulmones y cerebro, respectivamente.

Transmural: abarca todas las capas de la pared de un órgano hueco. Por ejemplo “enteritis transmural”.

Modificadores Opcionales

i) **Severidad:** generalmente se usa una escala subjetiva que incluye leve, moderada y severa.

ii) **Duración:** los indicadores de duración también suelen ser subjetivos a menos que haya por ejemplo evidencia clara de fibrosis u otras lesiones que sabemos con seguridad que llevan varios días en producirse. Estos incluyen:

Aguda: lesiones producidas en segundos a horas, generalmente por problemas vasculares o infiltrado inflamatorio. Usualmente no se ven lesiones macroscópicas.

Subaguda: lesiones producidas en horas a días y pueden o no ser visibles macroscópicamente.

Crónica: lesiones producidas en días a semanas. Estas son las lesiones que macroscópicamente suelen ser más floridas

iii) **“Con”.** Algunas lesiones pueden definirse mejor morfológicamente si luego de incluir los modificadores mencionados arriba se agregan algunos otros. Por ejemplo, la típica lesión de la piel en la erisipelosis porcina es “vasculitis cutánea multifocal, con infartos dérmicos”. En este caso la lesión principal es vasculitis, pero el resultado son los infartos cutáneos.

2-Diagnóstico etiológico

El diagnóstico etiológico incluye sitio y agente. Por ejemplo “Enteritis micobacteriana” o “Micobacteriosis intestinal”

3- Etiología o causa

La etiología es el agente o condición que causó el problema y puede ser un agente infeccioso, una deficiencia mineral, un tóxico, una mutación genética, etc. Por ejemplo “*Mycobacterium avium*, subespecie *Paratuberculosis*”, “deficiencia de selenio”, “*Wedelia Glauca*”.

4-Nombre de la enfermedad o condición

El nombre de la enfermedad se aplica a algunas enfermedades que tienen nombres que no necesariamente reflejan la etiología o el diagnóstico morfológico, pero que son lo suficientemente conocidas por su nombre propio para que quien lo lea sepa a que nos referimos. Por ejemplo “paratuberculosis”; “enterotoxemia”, “piometra”, etc.

B-DESCRIPCIÓN DE LESIONES MACROSCÓPICAS

El objetivo de la descripción macroscópica es describir los cambios observados para, a través de la interpretación de los mismos, llegar a un diagnóstico morfológico y si es posible a un diagnóstico etiológico, a una etiología y/o al nombre de la enfermedad. Mientras que la observación es objetiva, la interpretación es subjetiva y depende de los conocimientos previos que el observador tenga de la condición. Los parámetros a describir incluyen color, extensión, distribución, demarcación, textura y consistencia.

Color

El color innato de las células y el estroma se modifica por la cantidad de sangre en el lecho vascular y pigmentos como la mioglobina, esteroides, bilis, melanina, etc. Los colores oscuros suelen ocultar colores claros. Los diferentes colores son sugestivos de distintos cambios.

Rojo: Este color indica hemorragia, congestión y/o hiperemia. Las hemorragias casi siempre se asocian a necrosis y es raro observar solo hemorragia (ejemplo de esto último es la intoxicación por warfarina).

Blanco: Necrosis e inflamación son los dos procesos más comúnmente asociados con el color blanco, aunque el blanco aparece también en hueso, grasa, tejido conectivo fibroso, depósitos minerales, queratina y uratos. Los focos blancos de diferentes tamaños y bordes indefinidos están generalmente vinculados a inflamación linfocitaria y macrofágica. Los focos blancos intensos y algo brillantes, bien demarcados en piel en general están producidos por calcinosis circumscripta.

Amarillo: Necrosis que involucra lípidos, bilirrubina, fibrina, meconio, producción de esteroides (estos últimos dan en general una tonalidad naranja).

Verde: Este color se ve asociado a pigmentos biliares (pseudomelanosis), algunos procesos con infiltración masiva de neutrófilos o eosinófilos, necrosis de coagulación en aves, infecciones por algas u hongos, hemosiderina y aspiración de material vegetal.

Negro: Asociado a sangre, melanina, necrosis, pigmento de trematodes, carbón exógeno y H₂S. Por ejemplo el riñón de una oveja puede verse negro por la presencia de hemoglobina debido a la hemólisis producida por la intoxicación por cobre.

Extensión

La extensión se refiere al porcentaje del órgano afectado, lo que a su vez ayuda al diagnóstico y a establecer la severidad del proceso.

Distribución

El patrón de distribución ayuda a determinar la patogénesis de un proceso. Por ejemplo, *Histophilus somni* en el bovino provoca múltiples áreas focales de hemorragia y necrosis en cerebro, lo que sugiere distribución por vía sanguínea. Las lesiones simétricas casi siempre son de origen metabólico o tóxico (por ejemplo, la encefalomalacia simétrica focal debida a la toxina épsilon en la enterotoxemia ovina).

Demarcación

El grado con que la lesión está definida del tejido anormal adyacente ayuda a establecer si la lesión es aguda o crónica (si por ejemplo hay una capsula esto indica que la lesión es crónica).

Textura

Si se puede esparcir la lesión con un cuchillo, probablemente esas células no estén unidas entre si lo que indica que probablemente sean células muertas. Las células vivas, por otro lado, son difíciles de separar manualmente.

Consistencia

La consistencia se refiere a como se siente el tejido a la palpación, e incluye varias posibilidades.

Gas: aire atrapado en el tejido (enfisema)

Fluido: el tejido parece o se siente húmedo o parece una pelota de agua. El fluido puede ser edema, sangre, trasudado, exudado rico en líquido, efusiones, orina, etc.

Blando: el tejido es pobre en células y rico en líquidos como exudado o trasudado.

Firme: el tejido es pobre en líquidos y abundante en células: hiperplasia, neoplasia, fibrosis, etc.

Duro: tejido con mineralización.

Contorno

El contorno se refiere al grado con que la lesión está elevada o deprimida con respecto al tejido adyacente.

Sobreelevado: indica que hay algo agregado, pudiendo tratarse de células y otros componentes inflamatorios, fluido, neoplasia o elementos normales. Por ejemplo la vejiga de un gato con mucosa sobreelevada por gas en cistitis enfisematosa.

Deprimido: indica que algo se perdió; por ejemplo necrosis, atrofia o fibrosis (en el ultimo caso, el tejido conectivo se contrae, deprimiendo el tejido). Por ejemplo, en el riñón de un conejo infectado con *E. cuniculi* se pierden nefronas que son remplazadas por tejido conectivo fibroso.

Plano: la lesión no está ni elevada ni deprimida respecto al tejido circundante. Esto en general indica que es una lesión reciente y no hubo tiempo para cambios de volumen. Por ejemplo, en un perro lesiones rojas de diferentes tamaños debido a infartos producidos por Herpesvirus canino.

Tamaño

Es importante estimar o medir el tamaño de las lesiones, porque esto tiene impacto en el significado clínico de la misma.

IVERMECTINA: BASES FARMACOLÓGICAS DE SU POTENCIAL ANTIVIRAL

Prof. Carlos Lanusse

Med. Vet., Dr Cs Vet., Ph.D., Dip ECVPT

Laboratorio de Farmacología, Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN),

CONICET-CICPBA-UNCIPBA, Tandil, Argentina.

clanusse@vet.unicen.edu.ar

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. La extensión temporal y la elevada inversión económica requerida en los procesos de descubrimiento y desarrollo de nuevas moléculas, han motivado el planteo de estrategias de identificación de "viejos fármacos para nuevos usos". Aunque el reposicionamiento ha sido primariamente focalizado en la búsqueda de fármacos alternativos para el tratamiento del cáncer, el mismo se ha extendido a una variedad de campos terapéuticos. El reposicionamiento por tamizaje virtual (metodología computacional) está basado en el análisis de la estructura proteica. Se utiliza para identificar nuevos compuestos bioactivos, en base a la conformación/posición óptima del ligando en su blanco molecular (receptor). Trabajando con moléculas existentes (probadas y seguras), se acelera considerablemente el tiempo/esfuerzo requerido para la aprobación hacia una nueva indicación. Ante la sorpresiva irrupción de la pandemia por el virus SARS-CoV-2, se ha realizado un notable esfuerzo para encontrar alternativas de tratamiento basadas en el reposicionamiento de moléculas existentes. Fármacos antiparasitarios, antivirales, antimicrobianos, antiinflamatorios, antihipertensivos, anticuerpos monoclonales, entre otros, han sido evaluados como posibles tratamientos para el COVID-19.

El fármaco ivermectina ha sido un exitoso antiparasitario de uso masivo en salud animal y humana. Hoy se estima que más de 2000 millones de personas han sido tratadas con ivermectina para el control de diferentes enfermedades parasitarias (oncocercosis, geohelmintiasis, pediculosis, etc.) a lo largo de los últimos 30 años y sin observarse efectos adversos mayores, lo cual es una prueba elocuente de la seguridad del fármaco. Pero además la ivermectina ha sido investigada, como modelo de molécula de reposicionamiento hacia otras varias indicaciones terapéuticas. Su descubrimiento y posterior desarrollo significó un punto de inflexión en la historia de la terapia antiparasitaria que se ha proyectado hacia otros posibles campos terapéuticos en base a su acción pleiotrópica sobre una variedad de blancos celulares. Su actividad antiviral, antiinflamatoria, inmunomoduladora y antitumoral ha sido descripta en los últimos años. Desde abril del 2020, la ivermectina surgió como una molécula promisorio por sus potenciales efectos sobre el SARS-CoV-2, a partir de la evidencia de su efecto antiviral *in vitro* a concentraciones muy elevadas. Desde ese momento, se han realizado diferentes tipos de estudios para evaluar su actividad *in vivo* y medir los beneficios clínicos de su uso preventivo y/o curativo en pacientes con COVID-19. El efecto antiviral de la ivermectina radica primariamente en la inhibición del transporte nuclear mediado por el heterodímero de la importina alfa/beta1 (responsable de la importación nuclear de proteínas virales). Además de este efecto indirecto sobre el transporte

nuclear, otros blancos para un efecto antiviral directo han sido descritos, utilizando técnicas de acoplamiento molecular *in silico*. Se ha demostrado que la ivermectina tiene afinidad por la proteína S de la espícula viral, la enzima convertidora de angiotensina 2, y la proteasa de transmembrana serina 2, constituyéndose en blancos moleculares responsables de una actividad antiviral directa. Entre los varios aspectos farmacodinámicos por los cuales puede explicarse la actividad antiviral, existe consenso en que el principal mecanismo identifica a la ivermectina como un inhibidor del transporte nuclear mediado por importina, lo cual parece fundamental para el ciclo de vida de diferentes virus ARN, tales como el virus del dengue, encefalitis equina venezolana, el virus del oeste del Nilo, Zika y HIV entre otros. Además, se ha demostrado que la ivermectina podría ser un importante agente terapéutico o preventivo contra virus con genoma ADN como el de la Pseudorabia porcina y recientemente se ha evidenciado una importante actividad antiviral *in vitro* contra diferentes virus que intervienen en la enfermedad respiratoria bovina y sobre el virus de la fiebre aftosa, todo lo cual abre un nuevo campo de estudio en el marco de la virología animal tanto para la ivermectina como para otros fármacos química y mecanísticamente relacionados dentro de la familia de las lactonas macrocíclicas.

La actividad antiinflamatoria y/o inmunomoduladora de ivermectina, lo cual podría resultar beneficioso para atenuar la patología pulmonar inducida por el SARS-CoV-2, ha sido descrita recientemente. Dicha actividad antiinflamatoria podría estar sustentada en la capacidad pleiotrópica de la ivermectina para actuar sobre diversos receptores. Por ejemplo, un agonismo parcial en receptores de glicina con canales de cloro asociados presentes en diversas células del sistema inmune, tales como macrófagos, neutrófilos alveolares y del endotelio vascular, células de relevancia en el proceso inflamatorio pulmonar. Por otra parte, está demostrado que la ivermectina se comporta como un modulador positivo alostérico de receptores nicotínicos, y recientemente se corroboró que el virus SARS-CoV-2 podría interrumpir mecanismos antiinflamatorios endógenos mediados por la vía colinérgica a través de la interacción de la proteína S viral con dichos receptores. La ivermectina también ha sido propuesta junto con otros fármacos, como una herramienta terapéutica para regular las cascadas mediadas por la familia de enzimas conocida como Janus kinasas (JAKs) que desencadenan efectos inflamatorios y trombóticos ante la presencia del SARS-CoV-2. Evidentemente, existen diferentes mecanismos que podrían explicar el efecto antiinflamatorio de la ivermectina y su potencial contribución para atenuar la exagerada respuesta inflamatoria observada a nivel pulmonar en respuesta a la infección viral, sustentado por los resultados de modelación de los perfiles de concentración de ivermectina que se alcanzarían a nivel del tracto respiratorio en seres humanos, basado en la información previa obtenida en bovinos en nuestro Laboratorio. La relación directa entre exposición sistémica (concentraciones de ivermectina) y la disminución de la carga viral en las secreciones respiratorias de pacientes tratados con dosis elevadas al inicio de los síntomas de la enfermedad, se demostró en un estudio clínico multicéntrico realizado en Argentina. Este trabajo mostró por primera vez la existencia de una correlación entre aspectos farmacocinéticos (PK) y el efecto antiviral como indicador farmacodinámico (PD). La evidencia de una relación PK/PD para el efecto de ivermectina frente al virus se evidenció con una correlación positiva entre los niveles de ivermectina en sangre y la reducción de la carga viral en las secreciones nasofaríngeas de los pacientes tratados. En los pacientes que mostraron las mayores concentraciones de ivermectina en sangre luego de un régimen de tratamiento de 0.6 mg/kg durante 5 días consecutivos, la velocidad de aclaramiento viral fue 4 veces mayor respecto al grupo control. En resumen, desde el punto de vista farmacodinámico, la ivermectina tendría una respuesta antiviral que podría combinar acciones indirectas (inhibición del transporte a través de la membrana nuclear) y directas sobre blancos moleculares del propio virus. Además, su efecto benéfico frente a los cuadros asociados a COVID-19 podría verse potenciado por sus efectos antiinflamatorios, los cuales serían de utilidad clínica para atenuar la tormenta de citoquinas desencadenadas durante el desarrollo de la enfermedad. En este contexto se destaca la actividad científica desarrollada en Argentina y orientada al diseño y evaluación de una formulación de ivermectina en forma de spray nasal en un modelo animal, que permitió demostrar una notable ventaja en relación a las concentraciones del fármaco que se alcanzan en el región nasofaríngea y tracto pulmonar, abriendo un camino alternativo y novedoso para la aplicación intranasal (actualmente en evaluación clínica) de este fármaco en el futuro.

Desde la aparición de los resultados científicos que corroboraron los efectos *in vitro* de la ivermectina sobre el virus del SARS-CoV-2, se han desarrollado una importante cantidad de estudios de investigación para evaluar el uso de este fármaco dentro de una estrategia de tratamiento preventivo y/o terapéutico. Los resultados obtenidos han generado un elevado interés y un enorme debate público a escala nacional e internacional. Hoy existe un importante cuerpo de evidencia científica disponible en la literatura (eficacia y seguridad) que sustenta el efecto favorable de la ivermectina sobre el SARS-CoV-2. Sin embargo, han surgido caminos divergentes entre el intento (a veces desordenado por la premura) de la ciencia por aportar evidencias clarificadoras en los aspectos clínicos, la posición de los entes regulatorios y el interés de las corporaciones farmacéuticas. Esto ha planteado un dilema aún no resuelto, que dificulta la posibilidad de avanzar con el reposicionamiento de una molécula (segura y económica) que podría haber resultado de mayor utilidad en la actual pandemia en todo el mundo.

Nota: En el marco de esta conferencia se presenta una revisión actualizada y esquemática de la información científica disponible sobre el efecto antiviral del fármaco ivermectina. La comprensión y análisis de la misma se sustenta en 25 años de experiencia y aportes científicos sobre las propiedades farmacológicas de este fármaco y otros químicamente relacionados, generados desde nuestro Laboratorio de Farmacología Veterinaria, CIVETAN. Este aporte al conocimiento sobre la temática de reposicionamiento de un exitoso fármaco antiparasitario como potencial agente antiviral, se realiza poniendo en evidencia el rol que nuestra profesión veterinaria tiene en el marco del paradigma de abordaje médico de “una salud”. Queda disponible ante la requisitoria de los interesados, el sustento bibliográfico de la información técnica que se aporta en este resumen.

INTERPRETANDO CON CALIDAD LOS RESULTADOS BIOQUÍMICOS EN LA CLÍNICA DE PEQUEÑOS ANIMALES

Dr. Eiras, Diego Fernando^{1,2}

¹Departamento de Epizootiología y Salud Pública, FCV, UNLP, Buenos Aires, Argentina. ²Laboratorio DIAP (Diagnóstico en Animales Pequeños), Banfield, Buenos Aires, Argentina.
diegoeiras@diap.com.ar

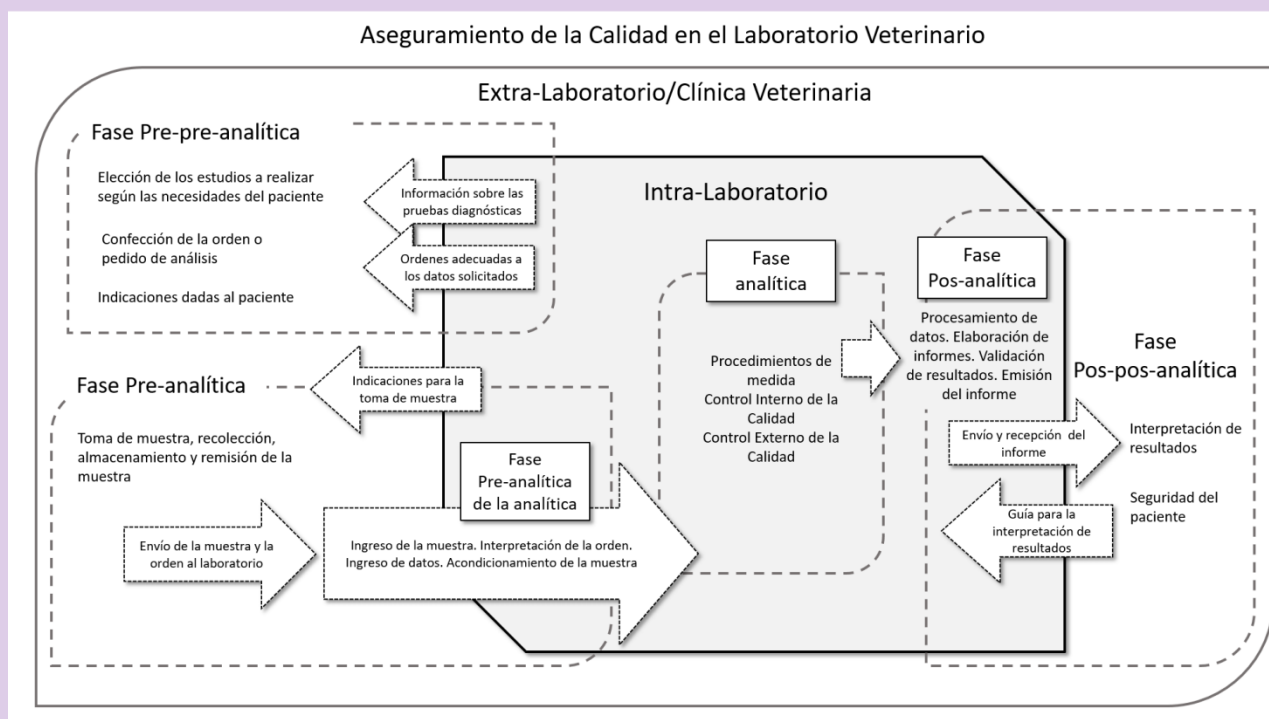
La presente disertación tiene como objetivo abordar la temática de la calidad del laboratorio de análisis clínicos veterinarios desde la relación que se establece de manera cotidiana entre el veterinario de laboratorio y el veterinario clínico. Para ello vamos a pensar el sistema de calidad de un laboratorio desde las etapas que se inician y finalizan en el paciente. El veterinario clínico usualmente resulta ajeno al conjunto de procesos y procedimientos que conciernen a la etapa analítica, es decir, lo que sucede dentro del laboratorio y en los detalles de las técnicas utilizadas para la obtención de resultados. Pero la calidad de un estudio no se reduce a los momentos de la intimidad de los ensayos y por esto se distinguen fases **preanalíticas** y **posanalíticas** que influyen de manera significativa en el sistema integral de calidad.

¿Cómo interviene el veterinario clínico en la calidad de los estudios de laboratorio? Quien atiende al paciente se encuentra involucrado de manera activa en la calidad de la etapa pre-analítica ya que, a diferencia de lo que puede suceder en los laboratorios de medicina

humana, el veterinario clínico es en muchos casos quien toma y remite las muestras al laboratorio. Aun sabiendo de la responsabilidad por la obtención de una buena muestra, el punto de partida del sistema de calidad se encuentra mucho antes, en una etapa denominada **pre-pre-analítica**, o sea, el momento del examen clínico y la solicitud de los estudios acordes para ese paciente particular. La concepción de la calidad desde el ingreso del paciente al consultorio funciona como un disparador del proceso que el laboratorio pondrá en marcha y volverá al paciente con un resultado interpretable y seguro para la toma de decisiones clínico-terapéuticas. A esta última etapa la denominamos **pos-pos-analítica** y es concebida como el momento donde las acciones que se implementen en un paciente individual dependen del aseguramiento de la calidad de los resultados desde el principio hasta el final del mencionado proceso.

Esto quiere decir que la calidad, por así decir, de un valor de urea o creatinina no solo puede verse afectada por la calidad del procedimiento aplicado, el equipamiento utilizado, los reactivos y hasta la tensión eléctrica en el momento de la medición. Esta etapa “analítica” que necesita de mucha atención y control se encuentra sumergida dentro del laboratorio y poco importa todo lo que hagamos por la calidad allí si la muestra fue mal tomada, proviene de un paciente sin ayuno, fue ingresada erróneamente al sistema o se encuentra mal acondicionada. Resulta también inconsistente si el valor que entrega este sector tiene buena precisión y veracidad, pero luego es trasladado erróneamente al informe que se emite. Ambas etapas, **preanalítica** y **posanalítica** son pilares fundamentales en la calidad del laboratorio clínico, pero, aunque todo lo antedicho hubiera salido bien (i.e. con los desvíos aceptables), de nada va a servir al paciente recibir un buen resultado de urea y creatinina si su problema no estaba relacionado con el riñón o si en base a los valores dentro del intervalo de referencia dejan al paciente sin atención médica para su riñón enfermo por causa de un informe con errores de transcripción.

Se propone de esta manera ampliada buscar una definición de calidad en la mutua interrelación de confianza y confidencialidad entre el laboratorio y el veterinario clínico, no pudiendo funcionar el uno sin el otro sin comunicarse de manera permanente. El siguiente esquema resume las fases del sistema de la calidad en un laboratorio de análisis clínicos veterinarios, mostrando las etapas **intralaboratorio** y **extralaboratorio** y la integración de los momentos de la interrelación necesaria entre el veterinario de laboratorio y el veterinario clínico.



FAUNA SILVESTRE Y RIESGO DE ZONOSIS: EL JABALÍ COMO MODELO DE ESTUDIO

Dr. Sergio Abate

Centro de Investigaciones y Transferencia Río Negro (UNRN-CONICET), Viedma, Río Negro, Argentina

En las últimas décadas se ha incrementado la velocidad de cambios ambientales, como consecuencia de causas naturales y antrópicas. Este fenómeno ocurre a escala global, y genera gran preocupación debido a su relación con el incremento de riesgos para la Salud Pública. El aumento de la población humana, junto al cambio en el uso de la tierra y la expansión de la frontera agropecuaria, explican en gran medida el fenómeno de fragmentación y disminución de áreas naturales, e incrementan la probabilidad de contacto entre seres humanos y sus animales domésticos con reservorios silvestres de enfermedades infecciosas. La actual pandemia del SARS Cov 2 nos obliga a reflexionar sobre la asociación entre el incremento de zoonosis emergentes y reemergentes y el mayor contacto entre fauna silvestre y el ser humano en la interfaz entre los ambientes silvestre y doméstico. En un importante documento elaborado desde el enfoque “un mundo, una salud” (FAO:2013) se identifica a la ganadería actual como el eslabón más débil de la salud mundial, y la prevención del contagio de patógenos entre el ambiente silvestre y el doméstico como uno de los cuatro frentes de acción para el manejo de las enfermedades en el nuevo contexto mundial. Aunque el estudio sanitario de animales silvestres en la interfaz silvestre y doméstico lleva varias décadas en el mundo, su consideración como política pública es relativamente reciente en Argentina. No solo resulta necesario detectar enfermedades emergentes y reemergentes, sino hacerlo con rapidez para la decisión de políticas eficientes orientadas a la salud pública. La información obtenida, también resulta relevante para el comercio internacional de ganado, alimentos y subproductos de origen animal, debido a la necesidad de demostrar la ausencia de enfermedades de interés comercial en un país o una región, para acceder a más y mejores mercados en la exportación de producción pecuaria, así como para mantener los mercados existentes.

El jabalí (*Sus scrofa*) es uno de los mamíferos invasores más dañinos del planeta (Lowe *et al.*, 2000), que llegó a nuestro continente desde Europa hace más de un siglo. Algunas características biológicas y ecológicas lo convierten en un excelente centinela para la vigilancia epidemiológica de enfermedades emergentes: sus hábitos alimentarios omnívoros oportunistas, su capacidad de desplazamiento de al menos 40 km diarios y su gran adaptación a diferentes tipos de ambientes, y la tendencia a vivir en grupos con estrecho contacto, facilitan que adquiera infecciones y las mantenga en el grupo. Por otro lado, y teniendo en cuenta la legislación vigente referida a fauna silvestre, su condición de exótico invasor facilita su manipulación y toma de muestras para estudios en comparación con la fauna silvestre nativa. Su carne es tradicionalmente utilizada para consumo humano en muchas regiones de Argentina, (en su mayor volumen sin control sanitario de inocuidad), por ello las acciones de vigilancia epidemiológica en jabalí resultan muy útiles para conocer riesgos de surgimiento de nuevas zoonosis emergentes, así como para prevenir zoonosis de transmisión alimentaria y por manipulación de piezas de caza.

Enfermedades parasitarias

Considerando que la elaboración de embutidos para consumo en crudo constituye uno de los sus usos más frecuentes de la carne de jabalí, (con fines comerciales o para autoconsumo), la triquinosis es una de las enfermedades parasitarias más preocupantes en estos animales. En el laboratorio de zoonosis de la UNRN se estudió el posible ciclo silvestre de la triquinosis en Patagonia noreste durante los últimos años (Winter, 2019) no pudiendo encontrar casos positivos en jabalíes ni en roedores silvestres por digestión artificial. Los resultados coinciden con otros estudios, desarrollados en la misma región. Sin embargo, en Patagonia andina ha sido reportada una prevalencia aparente (PA) superior al 3% en el año 2015 (Lauge, 2015), y referentes de Parques Nacionales alertan sobre el incremento de casos positivos en laboratorios de triquinosis de Neuquén y Río Negro. En el Parque Nacional el Palmar de Colón, hace algunos años se realizó un estudio en que se demostró la circulación de *Trichinella* spp en jabalíes, y luego (Cohen 2010), y luego de varios años de implementar un programa de presión de caza selectiva, (eliminando a los ejemplares de mayor porte y edad) actualmente los análisis arrojan resultados negativos a esta parasitosis. Este dato es relevante, porque aporta información útil sobre el manejo de una zoonosis mediante el control de una especie dañina para el ambiente y la producción. Actualmente se denuncian casos de jabalíes positivos a *Trichinella* spp en diferentes regiones del país, constituyendo un riesgo para la Salud Pública.

La presencia de *Toxoplasma gondii* en jabalí también ha sido estudiada, encontrándose n=18/144 casos positivos (12,5%) en muestreos realizados entre los años 2015 y 2018 en Patagonia noreste. Considerando que los embutidos para consumo crudos (curados por sal y desecación) constituyen uno de los usos más frecuente de la carne de jabalí para autoconsumo, resulta crítico el porcentaje de NaCl que cada familia utiliza en la receta para elaborarlos, ya que por debajo de 2,5% esta sal es incapaz de inactivar al parásito.

Otro parásito que está siendo estudiado es *Sarcocystis* spp. En Patagonia andina, sobre 96 muestras de jabalíes (provincias de Río negro y Neuquén) Elizabeth Chang Reising encontró una prevalencia del orden del 47%. En una muestra, se identificó mediante microscopía electrónica un quiste compatible con *S. suis* con capacidad zoonótica. En otro estudio desarrollado en un área mayor de nuestro país (Patagonia y zona centro-este), sobre 259 muestras la PA superó levemente el 50% (Helman, 2021).

Enfermedades bacterianas

La brucelosis es una de las zoonosis bacterianas más importantes, en las que el jabalí jugaría un papel importante como reservorio. Se han realizado estudios serológicos en diferentes regiones de nuestro país en la última década: El Palmar del Colón (área protegida bajo programa de control de jabalí), Patagonia noreste (área de producción ganadera extensiva), Bahía Samborombón (área protegida sin plan de control de jabalí). En todos los estudios desarrollados en áreas sin planes de manejo de jabalí, se han detectado casos positivos a *Brucella* cepa lisa mediante BPA + FPA: 7% para una zona de Patagonia noreste donde hay actividad ganadera, y 1,89% para un área natural de la Bahía de Samborombón en Buenos Aires. Estos resultados manifiestan que, en ausencia de manejo de esta especie, el jabalí representa un riesgo para transmisión de brucelosis al ser humano, por contacto directo (manipulación de la pieza de caza) o por infección de animales domésticos intermediarios, entre los que se encuentra el ganado bovino y o porcino.

La tuberculosis es otra zoonosis bacteriana importante, para la cual el jabalí ha demostrado ser un importante reservorio. Se han realizado estudios serológicos, por análisis de lesiones macroscópicas, cultivo, aislamiento e identificación molecular, en diversas partes del país. En una zona ganadera de la Patagonia noreste, sobre 30 linfonódulos de la cabeza de jabalíes se identificaron n= 12 positivos (40 %), 7 resultaron *M. bovis* y los 5 restantes micobacterias atípicas. Este valor es alarmante, por constituir un riesgo por contacto directo por quienes manipulan y consumen esta carne así como por el posible pasaje del jabalí al ganado.

La brucelosis y la tuberculosis resultan relevantes, por su poder zoonótico y su impacto en la producción. La infección en el ser humano podría ocurrir desde la obtención de la pieza de caza y durante todo el proceso de manipulación, eviscerado y manejo de la carcasa. Como existe la tradición de cacería con perros, éstos también están en riesgo de infección ya que toman contacto con las vísceras de los jabalíes abatidos. El pasaje al ganado podría ocurrir por contacto directo o indirecto: no solo las fuentes de agua constituyen puntos de contacto eventuales entre el ganado y la fauna silvestre, sino ciertas áreas de refugio y sombras, como ha sido demostrado en Patagonia noreste (Cifuentes 2018). El SENASA viene implementando programas de control de brucelosis y tuberculosis en ganado desde hace años, cuyos costos son afrontados por los productores pecuarios. En estos planes de control se regulan varias acciones, entre ellas la identificación de ganado infectado y su eliminación. La presencia de jabalíes con brucelosis y tuberculosis que acceden a establecimientos pecuarios constituye una amenaza para los programas oficiales de control de estas enfermedades, así como un factor de mantenimiento y dispersión de estas zoonosis.

La leptospirosis es otra zoonosis estudiada en jabalíes de diferentes zonas del país. Aunque la metodología aplicada (microaglutinación o MAT) no permite identificar la especie de *Leptospira* responsable de la infección, nos orienta sobre el serogrupo al que pertenece. En un alto porcentaje de casos, los jabalíes han manifestado serología positiva a serogrupos que incluyen especies con importancia zoonótica y poder patógeno en el ganado: en Patagonia noreste hemos encontrado una PA cercana al 20% (Abate 2018). Una PA del 36% fue encontrada en Bahía Samborombón, con n=30/83 animales positivos (Carpinetti, 2016). Este ambiente con mayor humedad, cursos de agua superficial y bañados, y con mayor densidad de fauna, pueden explicar la prevalencia del 30% observada en la provincia de Buenos Aires, en comparación a lo observado en Patagonia noreste. En el Palmar del Colón se encontró una PA de casos positivos a MAT cercana al 40%. En todos los casos, *L. Pomona* es el serovar mas prevalente. Hay registro del aislamiento de *L. borgpetersenii* de material fetal de jabalí en Patagonia andina (Brihuega 2017), que ha mostrado homología genética con aislamientos de otras especies de animales domésticos y silvestres, sumando evidencia sobre el papel del jabalí en el mantenimiento y difusión de la leptospirosis.

Enfermedades virales

La hepatitis E es responsable del mayor número de casos de hepatitis en varios lugares del mundo, su transmisión suele ser fecal-oral, aunque el consumo de carne de animales infectados también ha sido reportado. En Argentina está siendo estudiada desde hace poco tiempo, no obstante, ya se ha identificado la presencia de este virus en fuentes de agua natural y en jabalíes (Pisano 2019). En Patagonia noreste hemos encontrado n= 20 animales positivos sobre 102 animales estudiados (19,6 %), utilizando un método de ELISA estandarizado. Estos resultados alertan sobre el potencial del jabalí para diseminar este virus interactuando con el ser humano de manera indirecta (a través del ganado doméstico) o de manera directa.

Otras enfermedades con eventual poder zoonótico, como la aftosa, han sido estudiadas en jabalíes de Argentina, con el interés de realizar una vigilancia sobre la circulación de este virus que resulta de mucho interés por las implicancias en el comercio internacional.

En el manejo de las zoonosis resulta crítico la eliminación del agente infeccioso en las fuentes de infección. Tradicionalmente la mayoría del enfoque se ha puesto en los animales de compañía y producción. La fauna silvestre ha demostrado jugar un papel crucial en el mantenimiento de zoonosis y su potencial riesgo de transmisión al ser humano (de forma directa o indirecta a través de los animales domésticos), manifiesta un continuo incremento en muchos países del mundo: aquellas personas que acceden a fauna silvestre para consumo como alimento, quienes viven en zonas silvestres o en adyacencias a éstas, quienes trabajan en ámbitos rurales, se encuentran en riesgo de adquirir zoonosis emergentes o reemergentes según la OMS. Este hecho debe alertar a los servicios veterinarios oficiales y privados, laboratorios de diagnóstico, productores agropecuarios y personas y entes responsables de la fauna silvestre. Los resultados aquí expresados constituyen una evidencia insoslayable para que los decisores de políticas públicas implementen programas de control de jabalí (ayudando de esa manera al manejo de las enfermedades que esta especie puede transmitir), incluyendo así a la fauna silvestre en los planes oficiales de control de enfermedades pecuarias con capacidad zoonótica, y difundiendo la necesidad de adoptar medidas de bioseguridad en establecimientos pecuarios con el fin de evitar el contacto entre fauna silvestre y el ganado.

Bibliografía

Abate y col (2018). Seroprevalencia de anticuerpos anti leptospira en jabalíes (*Sus scrofa*) del extremo sur de la provincia de Buenos Aires. XXII Reunión Científico Técnica AAVLD, ISBN: 978-987-688-310-8, página 75.

Carpinetti y col (2016). Determinación de anticuerpos contra patógenos virales y bacterianos seleccionados en la población de cerdos silvestres (*Sus scrofa*) de la Reserva Natural Bahía Samborombón, Argentina. *Analecta Vet* 2016; 37 (1):5-11.

Cifuentes, S. (2018). Interacción espacio-temporal entre jabalí (*Sus scrofa*) y ganado bovino en el Noreste de la Patagonia. Tesis. UNRN.

Helman, M.E., Moré, G. & Dellarupe, A. (2021). Identificación y diferenciación de *Sarcocystis* spp. en suinos de Argentina. *Investigación Joven*, 7(2), 461-462. Recuperado a partir de <https://revistas.unlp.edu.ar/InvJov/article/view/11629>.

Cohen y col: *Trichinella* infection in wild boars (*Sus scrofa*) from a protected area of Argentina and its relationship with the presence of humans, *Veterinary Parasitology* 169 (2010) 362–366.

FAO. Ganadería Mundial 2013: Un panorama de enfermedades cambiante. <http://www.fao.org/3/i3440e/i3440e.pdf>

Lauge y col (2015). Triquinosis silvestre en el sur de la provincia del Neuquén, Argentina. *Revista SNS* N° 9 (2015): 65-68.

Lowe, S. et al. (2000). 100 of the World's Worst Invasive Alien Species A selection from the Global Invasive Species Database. Published by The Invasive Species Specialist Group (ISSG) a specialist group of the Species Survival Commission (SSC) of the World Conservation Union (IUCN), 12pp. First published as special lift-out in *Aliens* 12, December 2000. Updated and reprinted version: November 2004.

Pisano y col (2019). New pieces in the transmission cycle of the hepatitis E virus in South America: First viral detection in wild boars from Argentina; Elsevier Science Inc; *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*; 113; 8; 8-2019:497-499.

Winter, M. (2019). Evaluación del rol de los jabalíes y roedores en el ciclo silvestre de *Trichinella* spp. en el noreste de Patagonia. Tesis doctoral, Fac. Cs. Veterinarias, Universidad de Buenos Aires.

ZOONOSIS EMERGENTES O DESATENDIDAS: *BARTONELLA* spp.

Gustavo Enrique Monti, MV, PhD
Profesor Asociado. Quantitative Veterinary Epidemiology group. Wageningen University and Research
Wageningen - The Netherlands
gustavo.monti@wur.nl

Taxonomía

El género *Bartonella*, actualmente este género está compuesto por todas las especies que anteriormente se incluían en el género *Bartonella*, *Rochalimaea* y *Grahamella*. El análisis filogenético con el gen 16S rRNA como marcador mostró un clado con todas las especies del orden *Rickettsial* y excluye al género *Rochalimaea* y a *B. bacilliformis*, estos fueron agrupados en un clado con α -proteobacterias y fue eliminado del orden *Rickettsial*.

Los datos disponibles sobre *Bartonella* spp. se han ampliado rápidamente durante los últimos años, ya que se ha descubierto que este grupo de organismos está asociado a un espectro creciente de enfermedades emergentes y reemergentes. Hasta la fecha, se han encontrado más de 20 especies diferentes de *Bartonella* en una variedad de mamíferos, y el número de *Bartonella* spp. y sus respectivos huéspedes reservorios está en constante crecimiento. Se han identificado al menos 13 especies como patógenas para el ser humano, con tres especies responsables de la mayoría de las infecciones clínicamente relevantes en el ser humano: *B. bacilliformis*, *B. quintana* y *B. henselae* (B.h.). Dentro del género, B.h. es responsable de la mayoría de los casos de enfermedad humana y representa el prototipo de las bartonelas zoonóticas.

Ecología: Reservorio, transmisión y distribución geográfica

Los gatos domésticos son el reservorio natural de B.h. y las pulgas de los gatos (*Ctenocephalides felis*) son principalmente el vector aunque la garrapata *Ixodes ricinus* también se ha postulado como un potencial vector de B.h. En menor medida, B.h. se ha identificado en perros y se ha identificado ADN de B.h. en la pulga *Ctenocephalides canis* recogida en un perro en Israel.

La transmisión entre gatos se produce a través de la picadura de la pulga infectada y no hay transmisión directa entre gatos en un entorno libre de pulgas ni transmisión vertical y transmamaria.

B.h. se replica en el intestino de las pulgas y puede sobrevivir hasta 3 días en las heces de estas. La transmisión gatos-humanos, se produce a través de la inoculación directa por ej. durante los arañazos donde las uñas del gato contienen heces de pulga contaminadas con B.h.: también se han detectado en la saliva de los gatos, por lo que las mordeduras se consideran una fuente de infección. También se ha postulado a la picadura de pulga como posible vía de transmisión al ser humano.

La infección en los gatos tiene una distribución mundial, con una mayor prevalencia en las regiones cálidas y húmedas, y una menor prevalencia en las regiones más frías, con rangos de prevalencia del 1% en Noruega y Suiza a 64% en California y Florida, EE.UU. Varios estudios revelan una mayor prevalencia en gatos callejeros en comparación con los gatos domésticos, y muestran que los gatos con infestación de pulgas tenían más probabilidades de ser bacterémicos y seropositivos a B.h. La prevalencia en personas también es variable, entre el 2% en India a 57% en Croacia. Factores como el cuidado de los gatos, la historia de haber sido arañado o mordido por gatos muestran una asociación significativa con la seroprevalencia de B.h., mientras que no se observaron diferencias en la seropositividad entre hombres y mujeres. La seropositividad es significativamente más frecuente en los grupos de mayor edad en comparación con los niños. Basándose en la presencia de anticuerpos anti- B.h. en pacientes sanos, se sugiere que la mayoría de las infecciones por estos patógenos son subclínicas.

Genotipificación de *Bartonella henselae*

Se ha descrito una rica diversidad genética entre las B.h. en todo el mundo, en el Reino Unido, delineando 12 ST's diferentes en las 118 cepas estudiadas, en Alemania y España describiendo 16 ST's en los 41 aislados y 10 ST's en los 85 aislados analizados. Sin embargo, esta diversidad no se observó en Japón, donde solo se detectaron tres ST en 55 aislados caracterizados. Estas observaciones sugieren que la diversidad de B.h. es más pronunciada en algunas partes del mundo que en otras. La distribución de las ST depende de la localización geográfica, por ej. ST1, ST5 y ST6 se distribuyen en Europa, América del Norte y Australia, ST4 en Australia y Europa, mientras que ST9 está presente en América del Norte y Europa y ST7 solo está presente en Europa. La distribución de las ST también varía entre los distintos países de Europa; por ejemplo, se ha observado el predominio de la ST1 en Italia e Israel, pero está casi ausente en Francia, Reino Unido y Alemania. Algunos ST solo se describen en un país y en baja frecuencia. Estas ST poco comunes se han aislado en gatos, no siendo evidentes en humanos. En los gatos, se ha demostrado una mayor heterogeneidad genética que en los humanos, los ST1 a ST32 están representados en los gatos, mientras que en los humanos fueron los aislados ST1 a ST8. ST1, ST2, ST5 y ST8 están significativamente asociados a la zoonosis.

Se postula que la transmisión de B.h. al ser humano podría ser un proceso extremadamente ineficiente y puede atribuirse en parte a la variabilidad de las cepas en su capacidad de provocar la enfermedad en el ser humano o a que solo determinadas ST representan un riesgo de infección para el ser humano. Por lo tanto, la caracterización de las variantes de B.H. es importante para una mejor comprensión de la biología de este patógeno y para evaluar su riesgo para la Salud Pública.

Infección por *Bartonella henselae* en Chile

Se han estimado seroprevalencia del 95,6%, 79,2% y entre el 74,6 y el 71% en gatos de Santiago, Coquimbo y Valdivia, respectivamente. La mayor prevalencia en Santiago podría deberse a que la mayoría de los gatos del estudio eran gatos callejeros. El ADN de *Bartonella* spp. se identificó mediante técnicas moleculares en el 18% de gatos domésticos muestreados de la ciudad de Valdivia. De los que fue posible caracterizar las especies de *Bartonella*: 62% correspondió a B.h., 34,4% *B. clarridgeiae* y 3,4% (1/29) *B. koehlerae*.

Hasta la fecha, existen 2 estudios epidemiológicos nacionales asociando la infección por B.h. en gatos domésticos, en ambos, no se encontró asociación entre el sexo, edad y la presencia de pulgas. Solo se encontró asociación con el estilo de vida del gato, evidenciándose una seroprevalencia significativamente mayor en los gatos callejeros en comparación con los domésticos.

En un estudio en perros rurales de la provincia de Valdivia, se detectó ADN de *Bartonella* en 4,3%, de los cuales fue posible la secuenciación de dos muestras. Una secuencia con 99% de homología con *B. vinsonii* subsp. *Berkhoffii* y otra con 100% de homología con *B. henselae*, siendo la primera descripción de B.h. en perros de Chile.

Se estudió la presencia de *Bartonella* en vectores y se detectó ADN de *Bartonella* en pulgas recogidas de gatos y perros. Se amplificó ADN de *Bartonella* spp. en 11,7% de *C. felis* de gatos y 10,8% *Pulex irritans* de perros. Dos secuencias obtenidas de *C. felis* mostraron un 99% de homología con *B. clarridgeiae*, dos presentaron 100% de homología con B.h., y una obtenida de *P. irritans* mostró una alta homología (97,2%-99,5%) con *B. rochalimae*. En Valdivia, también se detectó ADN de *Bartonella* spp. en el 39,3% de las muestras de pulgas (*C. felis*) recogidas de gatos, y de las secuenciadas, el 47,3% corresponde a *B. clarridgeiae*, 42,1% a B.h. y el 5,3% a *B. koehlerae*. La infección por B.h. en Chile es endémica y de alta prevalencia en el ser humano y aunque se han diagnosticado más de 200 casos de ECS entre 1997-2000, no es de notificación obligatoria en el país. Un estudio realizado en niños de entre 2 y 7 años, residentes en Santiago, encontró anticuerpos IgG anti B.h. por IFA en el 13,3% de los individuos; con títulos de anticuerpos de 1/64 (88%) y 1/256 (12%). Además, en niños de Chile, B.h. se ha establecido como la tercera causa más frecuente de fiebre de origen desconocido (8,7%), entre las etiologías infecciosas.

El estudio de seroprevalencia en personal con riesgo laboral de Santiago, Valdivia, Chillán y Concepción, se estimó una prevalencia de 10,3% en veterinarios y técnicos veterinarios (Santiago-Valdivia) y una seroprevalencia de 60,5% en veterinarios y criadores de gatos (Concepción-Chillán). Además, se detectó ADN de B.h. en el 13,6% de los donantes de sangre del Hospital San José de Santiago. Por lo tanto, el riesgo de transmisión sanguínea de B.h. debe considerarse posible en Chile.

En cuanto a los factores de riesgo asociados a la infección por B.h. en humanos, los estudios realizados en Chile no muestran diferencias significativas según género y edad, solo uno de los estudios establece el antecedente rasguño o mordedura como factor de riesgo.

***Bartonella* spp. in animales silvestres en Chile**

En los últimos años, el número de especies o subespecies de *Bartonella* identificadas en mamíferos ha aumentado considerablemente. Los roedores son reservorios naturales de aproximadamente dos tercios de las *Bartonella* spp. descritas hasta la fecha y algunas de ellas han sido implicadas en enfermedades humanas. Los roedores y las pulgas (Hexapoda: Siphonaptera) se consideran actores clave en el ciclo de *Bartonella*, ya que muestran una gran eficiencia en la transmisión de *Bartonella* spp. entre los roedores. Entre las *Bartonella* conocidas adaptadas a roedores, varias variantes han sido implicadas como agentes causantes de manifestaciones clínicas humanas, como *B. elizabethae* en la endocarditis, *B. washoensis* en la miocarditis, meningitis y linfadenopatía, *B. grahamii* en neurorretinitis, *B. rochalimae* en la esplenomegalia, *B. vinsonii* subsp. *arupensis*, *B. tribocorum* y *B. tamiae* en la bacteriemia, y *B. kosoyi* (cepa de Tel Aviv) en la linfadenopatía. Algunos estudios apoyan la posibilidad de que especies de *Bartonella* adaptadas a los roedores puedan ser responsables de muchas más infecciones humanas, especialmente en zonas donde los humanos están en estrecho contacto con roedores.

La información sobre *Bartonella* spp. de roedores en Sudamérica es escasa, hasta hace poco tiempo solo de Perú y Brasil. Sin embargo, mas recientemente en un estudio en Chile, a partir de pulgas recogidas de ratas negras sinantrópicas (*Rattus rattus*), estas fueron positivas a *Bartonella* spp., estando estrechamente relacionadas con *B. coopersplainsensis*, *B. mastomydis*, *B. queenslandensis*, *B. tribocorum* y *B. doshiae*.

En otro estudio de nuestro equipo, proporcionamos la primera evidencia de *Bartonella* spp. en roedores silvestres y sinantrópicos de Chile y revelamos que estos mamíferos pueden actuar como reservorios de varias *Bartonella* en el país, incluyendo especies

potencialmente zoonóticas. La infección por *Bartonella* spp. parece estar muy extendida en los roedores de la provincia de Valdivia, tanto en especies sinantrópicas (*M. musculus*, *R. norvegicus*, *R. rattus*) y especies silvestres endémicas (*A. longipilis*, *Abrothrix* sp.). *Abrothrix* es un género de ratones sudamericanos de tamaño medio distribuido en los más diversos ambientes de Chile, desde la ecorregión mediterránea en el norte de Chile, desde la ecorregión mediterránea en el norte hasta los bosques templados y patagónicos del sur de Chile y Argentina.

La presencia general de *Bartonella* spp. en los roedores del sur de Chile (36,6%) fue similar a los estudios moleculares en *R. rattus* de Tailandia (32,5%), norte de California (33,3%) y Pantanal brasileño (31,2%), mientras que una prevalencia mucho menor se describió en roedores del sur de Brasil (3,6%) y una mayor tasa de infección [67,5%] se observó en *R. norvegicus* de Los Ángeles, EE.UU.

Nuestros resultados también confirman la presencia de *Bartonella* en roedores fuera del continente chileno, en una isla deshabitada de Chile, debido a invasión previa de *R. rattus*. Aunque las condiciones ecológicas en Guafo pueden ser adecuadas para el ciclo vital de *Nosopsyllus* sp. y *Plocopsylla* sp, la transmisión de la infección por *Bartonella* a las ratas negras salvajes aún debe investigarse en la región. La presencia de pulgas infectadas de la isla de Guafo, que es un lugar de reproducción para muchas especies de aves marinas, mamíferos marinos y roedores autóctonos hace necesario que se realicen futuras investigaciones para determinar si estas bacterias podrían suponer un riesgo para las especies autóctonas o los seres humanos. Se describen por primera vez *Bartonella* spp. altamente diversas y potencialmente zoonóticas (*B. rochalimae* y *B. tribocorum*) en roedores silvestres y roedores silvestres y sinantrópicos de Chile. Además, se ha descrito una nueva *Bartonella* spp. relacionada con cepas previamente aisladas de *Phyllotis* spp. en Perú. Además, se detectó *B. tribocorum* en *R. rattus* de la isla de Guafo.

La secuenciación y los análisis filogénicos dirigidos a tres loci (ITS, gltA, rpoB) de *Bartonella* spp. permitieron identificar un máximo de cinco genotipos en roedores del sur de Chile, potencialmente pertenecientes a tres *Bartonella* spp. diferentes, entre ellos *B. tribocorum* identificado en *R. rattus*, *B. rochalimae* detectado en *Abrothrix* sp, y dos genotipos de *Bartonella* spp. potencialmente no caracterizados e identificados a partir de *M. musculus*, *R. norvegicus*, *A. longipilis* y *Abrothrix* sp. Además, se identificaron dos genotipos de *B. tribocorum* en pulgas de la isla de Guafo.

Bartonella tribocorum fue detectada tanto en *R. rattus* como en sus pulgas asociadas, de Chile, pertenece al complejo de *B. elizabethae sensu lato* que representa un amplio grupo de especies y cepas asociadas a las ratas del Viejo Mundo y se ha asociado con fiebre de etiología desconocida, fatiga, dolor muscular y dolor de cabeza en humanos.

Independientemente de ser de diferentes especies, todos los roedores de nuestro estudio fueron atrapados en la misma comuna (Corral) de la provincia de Valdivia, lo que permite suponer también una potencial transmisión entre especies de roedores, por lo que el hábitat de los roedores puede representar una variable importante en la eficiencia del ciclo de transmisión y en la selección del repertorio de *Bartonella* spp. al que están expuestos los roedores.

La detección de especies de *Bartonella* zoonóticas, asociadas a roedores en el sur de Chile, suscita preocupación en materia de Salud Pública y pone de relieve la necesidad de seguir explorando su potencial zoonótico y sus características patógenas.

MAEDI-VISNA

Dr. Francisco A. Uzal

California Animal Health and Food Safety Laboratory, Faculty of Veterinary Medicine, University of California, Davis. San Bernardino Lab, CA, US.
fauzal@ucdavis.edu

La enfermedad de maedi-visna es una condición crónica de los ovinos, causada por un lentivirus de la familia *Retroviridae*. La enfermedad se caracteriza por neumonía crónica con pérdida de estado y a veces signos neurológicos. Maedi significa “disnea” y visna significa “caquexia”; este último término se usa para referirse a la forma neurológica de la enfermedad. El virus persiste en linfocitos, monocitos y macrófagos. La transmisión es principalmente por vía oral (principalmente por ingestión de calostro proveniente de ovejas infectadas) o por aerosoles.

La enfermedad clínica es más común en animales de 4 años o mayores, y se desarrolla en forma progresiva. La pérdida de estado y las dificultades respiratorias son los signos más comunes. La forma encefálica produce movimientos en círculo e inclinación de la cabeza. Hay una forma medular que causa parálisis.

Las lesiones post-mortem más comunes se encuentran en los pulmones y los ganglios linfáticos asociados, y consisten en neumonía intersticial y linfadenitis. En la forma nerviosa hay encefalitis y/o mielitis mononuclear.

El diagnóstico en los animales vivos se basa en serología, que se realiza por ELISA y, con menos frecuencia, inmunodifusión en gel de agar. El diagnóstico en los animales muertos se basa en la historia clínica, lesiones post mortem macro y microscópicas, y detección del virus por inmunohistoquímica y/o PCR. El diagnóstico diferencial incluye la adenomatosis pulmonar y otras neumonías bacterianas, virales y parasitarias, encefalitis tales como listeriosis, scrapie, nematodiasis cerebrosplinal, y neoplasias del sistema nervioso central.

No hay vacunas disponibles para el control de la enfermedad, que se basa en la detección y eliminación de animales infectados.

DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE SARS-COV-2 EN MASCOTAS

Dr. Moré, Gastón¹⁻²

(1) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Buenos Aires, Argentina. (2) Laboratorio de Inmunoparasitología, Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad Nacional de La Plata (UNLP), Buenos Aires, Argentina.
gastonmore@fcv.unlp.edu.ar

Resumen

Los coronavirus son virus de ARN envuelto que infectan aves y mamíferos. La mayoría están adaptados a una especie hospedadora, sin embargo, su alta frecuencia de mutación determina una alta diversidad genética y la eventual adaptación a otros hospedadores. Este “salto” de especies, y en particular desde animales a humanos, ha sido la teoría de génesis del SARS-CoV-2 y de la actual pandemia de la enfermedad producto de su infección, conocida como *Coronavirus Disease 2019* (COVID-19). La detección de SARS-CoV-2 en animales es uno de los eslabones epidemiológicos que requieren atención y ha sido recomendado por la Organización Mundial de la Salud (OMS). Los animales podrían actuar como un hospedador natural, intermediario y/o reservorio para la infección en humanos. Actualmente, se está llevando a cabo el diagnóstico y monitoreo de la infección con SARS-CoV-2 en muestras de animales de todo el mundo, reportándose casos en felinos, caninos, hurones y visones. Genera preocupación la introducción y circulación de nuevas cepas de virus en el hombre, que resulten en modificaciones de transmisibilidad o virulencia y en una disminución de la eficacia de los

tratamientos y de las vacunas. Desde mediados del 2020 llevamos adelante parte del proyecto financiado por la Agencia Nacional de promoción a la Investigación, Desarrollo Tecnológico e Innovación en asociación titulado *Detección y caracterización molecular del SARS-CoV-2 en animales y vigilancia epidemiológica de posibles reservorios, amplificadores y/o transmisores del virus*. Los objetivos del proyecto involucran el diagnóstico y la vigilancia epidemiológica de animales pertenecientes a personas infectadas con SARS-CoV-2.

Los métodos de diagnóstico para SARS-CoV-2 disponibles actualmente, se basan principalmente en la detección de fragmentos génicos mediante *real time* RT-PCR y han sido validados utilizando diversos patógenos respiratorios humanos. En nuestro país existen numerosos kits comerciales disponibles y aprobados por la ANMAT para su uso en diagnóstico, bajo situación excepcional, de la infección en humanos. Nuestro grupo de trabajo integra el laboratorio que la Facultad de Ciencias Veterinarias-UNLP puso a disposición para el diagnóstico por *real time* RT-PCR de hisopados derivados por el Ministerio de Salud de la Provincia de Buenos Aires mediante un convenio específico. Como parte de este convenio se procesaron más de 6000 muestras mediante kits de *real time* RT-PCR del tipo “one-step” en multiplex con sondas tipo TaqMan provistos por el Ministerio. Los kits utilizados fueron los siguientes: **1- BGI**= Real-Time Fluorescent RT-PCR Kit for Detecting SARS-CoV-2 (BGI, China) con 1 *target* viral y B-actina como *target* de control interno; **2-GF**= GeneFinder™ COVID-19 Plus RealAmp kit (OSANG Healthcare, Korea), con 3 fragmentos o *targets* virales y **3- AP**= DisCoVery SARS-CoV-2 RT-PCR detection kit Cy5 (AP-Biotech, Argentina) de 2 *targets* virales. Los kits 2 y 3 utilizan como control interno un fragmento de la RNAPol humana. Luego de análisis comparativos sobre muestras de hisopados humanos, se seleccionó para uso en animales el kit AP como el de mejor sensibilidad y especificidad. En base a la experiencia en el uso de estos kits y gracias al financiamiento de Agencia, se decidió realizar el diagnóstico en muestras animales adquiriendo y adaptando estos kits comerciales. Teniendo en cuenta el costo de estos kits, se propuso restringir el testeo a mascotas de personas con diagnóstico positivo para SARS-CoV-2.

Se tomaron muestras, de hisopados orofaríngeos y rectales de 46 caninos y 35 felinos con la utilización de equipamiento de protección personal apropiado. Las muestras fueron transportadas refrigeradas y en triple envasado al laboratorio. Se adaptó la extracción de ARN con kits comerciales, para incorporar ARN humano en el proceso de purificación, bajo cabina de seguridad biológica tipo II. De este modo, es posible utilizar el control interno (RNAPol humana) de los kits de PCR como monitor de la extracción y potencial presencia de inhibidores. Se detectó reacción a los *targets* virales en muestras de hisopado orofaríngeo y rectal de un felino y un canino y solo en el orofaríngeo de otro felino y otro canino. Los valores de Ct en las muestras fueron considerados “altos” indicando *a priori*, bajas cargas virales. En el canino y felino que resultaron positivos en ambos hisopados los Ct en la muestra de hisopado rectal fueron mayores y cercanos a los valores de corte del kit, indicando una menor cantidad de genoma viral en esas muestras. Los animales reactivos no presentaron signología importante, y solo una de los felinos presentó estornudos. Los animales fueron nuevamente muestreados alrededor de una semana después del diagnóstico inicial y en todos los casos el resultado de la *real time* RT-PCR fue no reactivo o no detectable para los *targets* virales. Los hallazgos fueron reportados ante la OIE. El hisopado orofaríngeo de esta gata con estornudos presentó los Ct para *targets* virales más bajos (Ct alrededor de 30). Sobre esta muestra se procedió a la secuenciación de fragmentos y del genoma completo para confirmar la identidad y variante de SARS-CoV-2 detectada. Se confirmó la identidad y se detectó la variante o linaje B.1.499, la cual era frecuentemente detectada en casos humanos del Área Metropolitana de Buenos Aires al momento de detección en el felino. Estos resultados fueron recientemente publicados (Fuentelba et al., 2021). Nuestros resultados sugieren, en principio, una infección de las mascotas a través del contacto estrecho con sus responsables humanos infectados. Es recomendable que las personas consideradas como caso sospechoso o confirmado, traten de evitar el contacto estrecho con sus mascotas de modo de evitar las infecciones animales y minimizar los riesgos de “saltos” de especies y potenciales recombinaciones.

Sin embargo, es necesaria la estandarización de métodos directos e indirectos que permitan la detección específica de SARS-CoV-2 en diferentes muestras provenientes de animales susceptibles como los caninos, felinos y visones, y que sean más accesibles económicamente para estudios poblacionales. La correcta identificación de las diversas infecciones por coronavirus específicos de especie, y la diferenciación de la infección por SARS-CoV-2 en animales, permitirá la estandarización de los test diagnósticos disponibles actualmente para SARS-CoV-2, el diseño de nuevos test a nivel local y su posterior uso en la vigilancia epidemiológica de los animales.

Referencias

Fuentelba, N.A., Moré, G., Bravi, M.E., Unzaga J.M., De Felice, L., Salina, M., Viegas M., Nabaes Jodar, M.S., Valinotto, L.E., Rivero, F.D., Di Lullo, D., Pecoraro, M., Panei, C.J. (2021). First detection and molecular analysis of SARS-CoV-2 from a naturally infected cat from Argentina. *Veterinary Microbiology* 260: 109179. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2021.109179>

ESTUDIO DE LA PRESENCIA DE CORONAVIRUS EN MURCIÉLAGOS, ROEDORES Y CAMÉLIDOS DE LA PROVINCIA DE JUJUY

Dra. Bratanich, Ana Cristina

Cátedra de Virología Animal- Facultad de Ciencias Veterinarias- Universidad de Buenos Aires-Buenos Aires, Argentina
abratanich@fvet.uba.ar

La pandemia producida por el SARS-CoV2 represento el tercer evento (visible) de infección en humanos producido por un coronavirus animal en los últimos 20 años. En estos tres incidentes, juntos con otros ya conocidos tanto en humanos como en animales, se cree que coronavirus que infectan persistentemente murciélagos y roedores son los antecesores de los virus que los causaron. Las características moleculares de todos estos virus claramente indican que estas especies animales generaron tipos virales que a través de un huésped intermedio (no siempre probado) alcanzó a infectar al ser humano. Indudablemente las propiedades que poseen estos virus de crear variabilidad genómica, especialmente por recombinación, les otorga una amplia capacidad para cambiar rápidamente e infectar nuevos huéspedes. El ser humano, sin embargo, no es el huésped final en esta cadena ya que, como se observó en esta pandemia, el virus puede ser transmitido a partir de él hacia otros animales, domésticos y de producción. A pesar de todas las alarmas previas, este nuevo evento puso en evidencia que sigue existiendo muy poco conocimiento sobre los tipos virales circulando en animales silvestres, especialmente en aquellas especies del cual se originan prácticamente todos los coronavirus (murciélagos, roedores y aves). A su vez, al desconocer que virus existen en la naturaleza, se pierde también la posibilidad de estudiar qué factores conllevan a un salto de especie y cuáles son las características moleculares que el virus requiere para lograrlo y adaptarse a un nuevo huésped.

Para contribuir al conocimiento de los tipos de coronavirus circulando actualmente en animales silvestres en Argentina, emprendimos un proyecto subsidiado por la Agencia Nacional de Promoción de la Investigación, el Desarrollo Tecnológico y la Innovación para estudiar un hotspot en la provincia de Jujuy. En este lugar conviven murciélagos frugívoros, insectívoros y hematófagos con roedores y camélidos, lo cual permite estudiar no solo que tipos virales circulan sino también el grado de intercambio genético que pudo haber ocurrido entre ellos. Para ello se obtuvieron hisopados nasales, orofaríngeos y rectales y muestras de materia fecal (pooles o individuales) de murciélagos, roedores, llamas, vicuñas, cabras y equinos (alrededor de 550 muestras). Las especies de murciélagos muestreados fueron *Desmodus rotundus*, *Diademus youngi*, *Artibeus planirostris*, *Myotis riparius*, *Molossus molossus*, *Histiotus laeophotis*, *Eptesicus furinalis*, *Tadarida brasiliensis* y *Myotis dinellii*. El RNA extraído se utilizó para una reacción de transcripción reversa con primers degenerados que amplifican todos los géneros de coronavirus. De 120 muestras de materia fecal y 160 de hisopados de murciélagos se obtuvieron 31 amplificaciones positivas de las especies *Desmodus rotundus*, *Myotis riparius* y *Molossus molossus* mientras que de 37 muestras de roedores (hisopados orales y materia fecal) se logró la amplificación en dos de ellas. No se hallaron positivos en el resto de las especies muestreadas. Los productos de PCR fueron secuenciados para analizar su homología con coronavirus ya descritos.

Mediante alineamientos con secuencias del GenBank las muestras de murciélagos y de roedores fueron identificadas como alfacoronavirus, con una identidad nucleotídica de entre 83% al 99% con secuencias descritas en murciélagos de los géneros *Myotis*, *Eptesicus*, *Artibeus* y *Desmodus* de Brasil y EE.UU. Interesantemente, y como ha sido reportado previamente en la literatura, se hallaron secuencias de alfa-coronavirus de murciélagos en material de roedores, en conjunción con las especies con las cuales interactúan. Sin embargo, no puede descartarse en estas muestras la posibilidad de contaminación ambiental al hallarse solamente en materia fecal.

Parte de las muestras positivas están en el proceso de ser secuenciadas en su totalidad en el exterior (Universidad de Georgia, USA) a fin de evaluar si han existido eventos de recombinación entre los virus presentes.

Los resultados de este trabajo son relevantes al aportar, hasta lo que sabemos, las primeras secuencias de alfacoronavirus presentes en especies de murciélagos que habitan el territorio argentino.

CIRCULACIÓN DE SARS-COV2 DE MASCOTAS EN CABA

Dra. Mundo, Silvia Leonor

Instituto de Producción Animal UBA-CONICET. Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Inmunología. Buenos Aires Argentina.
smundo@fvvet.uba.ar

China informó de un brote a la OMS el 31 de diciembre de 2019 y poco después se identificó como microorganismo causante a un betacoronavirus con alta homología con un coronavirus (CoV) de murciélago que utiliza el receptor de la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2) como mecanismo de ingreso a la célula (Lu y col., 2020; Wan y col., 2020). Después de este probable contagio zoonótico, los eventos de transmisión de persona a persona se sucedieron con presentaciones clínicas que van desde la ausencia de síntomas, fiebre leve, tos y disnea, a tormenta de citoquinas y la muerte. El COVID-19 es un nuevo síndrome respiratorio agudo severo producido por el coronavirus 2 (SARS-CoV-2) que se originó en Wuhan (provincia de Hubei, China) a finales de 2019. Se ha extendido por todo el mundo afectando a millones de personas. No solo afecta la salud, sino que ha restringido el movimiento de la mayor parte de la población mundial durante los últimos meses impactando en las actividades económicas, culturales y sociales. Por lo tanto, el COVID-19 se ha convertido en el principal desafío sanitario, económico y humanitario del siglo XXI. Además, se han informado casos de infecciones por SARS-CoV-2 en huéspedes animales como perro, gato, hurón, tigre, león y visón (Lakdawala SS y col. 2020; Hernández M y col. 2020; Oreshkova N y col. 2020; Newman A y col. 2020; Leroy EM y col. 2020). En un estudio de susceptibilidad animal, se ha intentado la infección experimental de perros, gatos, hurones, cerdos, pollos y patos con SARS-CoV-2 (Shi J y col. 2020). Los resultados de este estudio muestran que el virus replica de manera eficiente tanto en los gatos como en los hurones y podían transmitir el virus, los perros mostraban una baja susceptibilidad, mientras que los cerdos y las especies de aves eran huéspedes no permisivos. La estrecha asociación entre humanos y animales, incluidos los animales de compañía, plantea preocupaciones sobre los riesgos potenciales de transmisión del SARS-CoV-2 de los pacientes con COVID-19 a los animales ("zoonosis inversa") y el papel potencial de los animales infectados, que podrían contribuir a perpetuar la propagación de la enfermedad (Hernández M y col. 2020; Leroy E y col. 2020). El grupo de Gaudreault NN y col. (2020) infectó artificialmente vía oral y nasal a gatos domésticos de 4 a 5 meses de edad con altas dosis de SARS-CoV-2 y detectó virus en secreciones y órganos, sin identificar signos clínicos. También se detectaron anticuerpos en suero. Sin embargo, estos gatos asintomáticos fueron capaces de transmitir la infección a otros gatos centinelas. Dicha publicación, junto con los trabajos de Shi y col. (2020), confirman que el contagio entre gatos es posible y que pueden actuar como potenciales reservorios. Por otro lado, Halfmann y col. (2020) no identificaron virus en los hisopados rectales de gatos infectados. Un trabajo de Bosco Lauth y sus colegas (2020) investigó el desafío y la transmisión experimental del SARS-CoV-2 en gatos y perros adultos y la reinfección en los primeros 28 días post-desafío. En los gatos estudiados, identificaron una alta susceptibilidad a la infección subclínica caracterizada por un período de excreción viral por vía oral y nasal, capaz de infectar a otros gatos. Estos gatos presentaban anticuerpos que prevenían la reinfección, mientras que en los perros desafiados no pudieron detectar virus en secreciones, pero sí anticuerpos. Todos estos estudios corresponden a desafíos experimentales. Las diferencias observadas podrían explicarse por la edad de los animales o por la utilización de diferentes cepas virales en la infección experimental. En nuestro país, en el marco de la Unidad Coronavirus del MINCyT AGENCIA-CONICET, se han detectado focos de animales positivos a SARS-CoV-2 COVID-19 en 2 gatos, 4 perros y un puma. Los dos gatos presentaron síntomas clínicos, así como uno de los perros. El resto de los animales fueron asintomáticos. Los perros y gatos convivían con personas con diagnóstico positivo de COVID-19 (OIE. World Organisation for Animal Health. SARS CoV-2 Argentina). A partir de estos antecedentes nuestro objetivo es identificar la infección natural en animales de compañía a través del desarrollo de herramientas diagnósticas que detecten la respuesta inmune. En un primer momento, y a fin de convalidar las técnicas a desarrollar, se trabajó sobre muestras de referencia (controles positivos y negativos). En el marco del proyecto IP COVID-19 N°239 - N° 06 "Una salud: identificación de la presencia de COVID -19 en animales domésticos y silvestres en dos hotspots en Argentina" hemos iniciado el estudio de esta enfermedad en nuestro país, y hemos identificado la presencia de anticuerpos específicos en mascotas aplicando el ELISA desarrollado por el Instituto Leloir (cedidos gentilmente por la Dra. Andrea Gamarnik). Hemos adaptado el kit a gatos y perros y logrado la identificación de sueros controles positivos y negativos para ambas especies. Por otro lado, la confirmación diagnóstica mediante la aplicación del PCR para la identificación viral en esas mascotas fue positiva en un canino. Estos resultados obtenidos por nuestro grupo, sumado a los altos títulos de anticuerpos identificados en los animales de compañía a nivel internacional nos alientan a continuar con este proyecto. Además, hemos desarrollado una nueva construcción a partir de un aislamiento de seres humanos de origen local y expresado la proteína a partir de la transfección de este plásmido en células de mamíferos. Estamos ensayándolas como antígeno en pruebas diagnósticas, esta nueva construcción es a partir de un aislamiento viral en la República Argentina. Proponemos aplicar estas técnicas a los animales

que se presentan a la consulta en el Hospital Escuela a fin de identificar número de animales afectados, presencia y tipo de signología y caracterización de la respuesta de anticuerpos que se detectare. El conocimiento del tipo de patología o signología de la infección en los animales de compañía permitirá generar recomendaciones a los veterinarios y/o poseedores de mascotas. Así como el relevamiento serológico podrá sustentar la toma de decisiones en cuanto a las posibles acciones de protección como: aislamiento, cuarentena y/o inmunizaciones, o sea vigilancia en animales de compañía. Además, la dinámica de la enfermedad requiere una explicación más detallada, principalmente en lo que respecta a la transmisión del virus de humanos a animales y viceversa. A la fecha se analizaron 66 gatos y 73 perros convivientes con humanos infectados. Se adaptó el ELISA-COVIDAR (Lab. Lemos SRL que utiliza la proteína Spike (pS) más RBD expresadas en células HEK) a las especies felina y canina utilizando anticuerpos comerciales (Novex, Invitrogen). Los valores de corte fueron fijados estudiando sueros pre-pandemia (n: 83 gatos y n: 79 perros). Los sueros considerados reactivos fueron analizados en un ELISA *in house*, utilizando la pS expresada en baculovirus (Nanobiotec UBA/Conicet) y se identificó su efecto neutralizante por pseudo-seroneutralización viral. Nueve de los 66 gatos (13,63%) fueron clasificados como reactivos en ambos ELISAs, de los cuales 4 mostraron efecto neutralizante *in vitro* (6%). Cinco de 9 casos felinos reactivos presentaron signos clínicos (55%). Veintinueve de los 73 perros (39,72%) fueron reactivos para ambos ELISAs, de los cuales el 6 mostraron efecto neutralizante (7,5%). Siete de 29 casos caninos reactivos presentaron signos clínicos (24%). Este estudio permite afirmar que tanto gatos como perros convivientes pueden ser permisivos al virus humano, que el porcentaje de reaccionantes detectados es mayor en caninos que en felinos, pero que los gatos reactivos presentan signología en una proporción mayor. La técnica aplicada permite realizar el seguimiento de los pacientes veterinarios y contar con herramientas que nos permitan realizar el control de los animales domésticos aplicando el concepto de una salud. La información obtenida permitirá lograr una mejor comprensión y podrá ser el sustento de acciones epidemiológicas a futuro, contribuyendo a la formulación de medidas preventivas para combatir la transmisión de COVID-19.

Referencias

- Lu, R Zhao X, Li J, Niu P, Yang B, Wu H., Wang W, Song, H., Huang B, Zhu N, Bi Y, Ma X, Zhan F, Wang L, Hu T, Zhou H, Hu Z, Zhou W, Zhao L, Chen J, Meng Y, Wang J, Lin Y, Yuan J, Xie Z, Ma J, Liu WJ, Wang D, Xu W, Holmes EC, Gao G F, Wu G, Chen W, Shi W, Tan W, Genomic characterization and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding, *The Lancet*, Volume 395, Issue 10224, 2020, Pages 565-74, ISSN 0140-6736. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30251-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30251-8).
- Wan, Y., Shang, J., Graham, R., Baric, R.S., and Li, F. (2020). Receptor Recognition by the Novel Coronavirus from Wuhan: an Analysis Based on Decade-Long Structural Studies of SARS Coronavirus. *J. Virol.* 94, e00127- 20, <https://doi.org/10.1128/JVI.00127-20>.
- Lakdawala SS, Menachery VD. The search for a COVID-19 animal model. *Science*. 2020;368 (6494):942–943.
- Lean, F.Z.X., Lamers, M.M., Smith, S.P. *et al.* Development of immunohistochemistry and in situ hybridisation for the detection of SARS-CoV and SARS-CoV-2 in formalin-fixed paraffin-embedded specimens. *Sci Rep* 10, 21894 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-78949-0>
- Hernández M, Abad D, Eiros JM, et al. Are animals a Neglected Transmission Route of SARS-CoV-2? *Pathogens*. 2020;9(6):480. doi:10.3390/pathogens 9060480. PMID: 32570713; PMCID: PMC7350367.
- Leroy EM, Ar Gouilh M, Brugère-Picoux J. The risk of SARS-CoV-2 transmission to pets and other wild and domestic animals strongly mandates a one-health strategy to control the COVID-19 pandemic. *One health (Amsterdam, Netherlands)*. 2020:100133.
- Newman A, Smith D, Ghai RR, et al. First reported Cases of SARS-CoV-2 infection in companion animals - New York, March-April 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2020;69(23):710–713.
- Oreshkova N, Molenaar R-J, Vreman S, et al. SARSCoV2 infection in farmed mink, Netherlands, April 2020. *bioRxiv*. 2020:2020.05.18.101493
- Shi J, Wen Z, Zhong G, Yang H, Wang C, Huang B, Liu R, He X, Shuai L, Sun Z, Zhao Y, Liu P, Liang L, Cui P, Wang J, Zhang X, Guan Y, Tan W, Wu G, Chen H, Bu Z. Susceptibility of ferrets, cats, dogs, and other domesticated animals to SARS-coronavirus 2. *Science*. 2020 May 29;368(6494):1016-1020. doi: 10.1126/science.abb7015. Epub 2020 Apr 8. PMID: 32269068; PMCID: PMC7164390.
- Halfmann PJ, Hatta M, Chiba S, Maemura T, Fan S, Takeda M, Kinoshita N, Hattori SI, Sakai-Tagawa Y, Iwatsuki-Horimoto K, Imai M, Kawaoka Y. Transmission of SARS-CoV-2 in Domestic Cats. *N Engl J Med*. 2020 Aug 6;383(6):592-594. doi: 10.1056/NEJMc2013400. Epub 2020 May 13. PMID: 32402157.
- Bosco-Lauth AM, Hartwig AE, Porter SM, et al. Pathogenesis, transmission and response to re-exposure of SARS-CoV-2 in domestic cats. *bioRxiv*. 2020:2020.05.28.120998
- Gaudreault NN, et al. SARS-CoV-2 infection, disease and transmission in domestic cats. *Emerg Microbes Infect*. 2020 Dec;9(1):2322-2332. doi: 10.1080/22221751.2020.1833687. PMID: 33028154; PMCID: PMC7594869.

RESISTENCIA A ANTIMICROBIANOS: UN ENFOQUE INTEGRAL

Prof. Sergio f. Sanchez Bruni

Laboratorio de Farmacología, Facultad de Ciencias Veterinarias, universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires.
Centro de Investigación Veterinaria Tandil (CIVETAN)-CONICET. Tandil cp B7000.
sbruni@vet.unicen.edu.ar

Las enfermedades infecciosas bacterianas provocan una elevada morbi-mortalidad en todo el mundo tanto en seres humanos como en animales. Los antibióticos forman parte de las principales herramientas profiláctica-terapéuticas en medicina humana y veterinaria para el control de estas enfermedades. Sin embargo, su indicación no racional o abusiva, ha llevado a que la eficacia de los mismos disminuya considerablemente. El aumento de bacterias multiresistentes a los antibióticos se genera por el uso irracional de los antimicrobianos por profesionales de la salud y no profesionales) y, representa una importante amenaza en salud humana y animal. Aunque la resistencia a

los antibióticos es un fenómeno constante, está directamente relacionada con el volumen de antibióticos consumidos tanto en medicina humana como en medicina veterinaria, además de la transmisión vía cadena alimentaria. Cada vez se utilizan más cantidades de antibióticos en la atención sanitaria y en la agricultura, diseminando principios activos en el medio ambiente. Por consiguiente, el impacto del uso generalizado de los antibióticos es enorme, promoviendo la aparición y diseminación de la resistencia a los antimicrobianos generando las llamadas “superbacterias” de muy difícil control farmacológico. Frente a la ausencia de desarrollo de nuevos fármacos antimicrobianos, la resistencia a los antibióticos se ha convertido en uno de los principales problemas de Salud Pública, Salud Animal y Salud Medioambiental a nivel mundial. La resistencia bacteriana a los antibióticos en salud humana tiene un fuerte correlato con la sanidad animal y viceversa (zoonosis reversa), siendo el medioambiente el factor primordial de transmisibilidad de genes resistentes. La falta de investigación sobre el desarrollo de nuevos antimicrobianos de las grandes compañías farmacéuticas es un problema preocupante. Cada año en USA al menos 2 millones de personas se infectan con bacterias resistentes a los antibióticos, y 23,000 personas mueren cada año como resultado directo de estas infecciones. Mientras la atención global está siendo consumida por el COVID 19 otra pandemia ya está instaurada a nivel local e internacional. Actualmente, alrededor de 700 mil personas mueren por año en todo el mundo por enfermedades causadas por gérmenes resistentes. Se estima que hasta 10 millones de personas podrían morir anualmente por superbacterias en 2050, según nuevas proyecciones estadísticas.

ÉTICA Y LEGISLACIÓN

Dr. Mariano Bernades

Ex Presidente Tribunal disciplina Colegio Veterinarios Pcia. Buenos Aires

Distintos organismos regulan el ejercicio profesional entre ellos el Ministerio de Agricultura y Ganadería, Senasa, Ministerio de Salud Pública, Colegios y Consejos Profesionales.

Los códigos de ética no permiten discriminaciones, negligencias, no utilizar medios inadecuados, emitir certificados en blanco, o sin efectuar la práctica o alterar resultados. Tampoco censurar en público a colegas, o injuriarlos.

Las denuncias llegadas a los Colegios pueden ser derivadas a tribunales de disciplina o ética. Luego de los pasos establecidos se llega a la sanción o absolución.

Los contratos de trabajo son de objetivos, cuando son ciencias exactas, o de medios o intención. Estos corresponden a las no exactas como nuestra profesión. Solo se exige seguir los procedimientos aceptados, no el resultado.

Los directores técnicos de establecimientos son responsables de lo que en ellos suceda. Evitar que auxiliares efectúen tareas que no correspondan.

Responsabilidades civiles surgen ante daños que pudieran producirse. Delito culposos es cuando se produjo el daño sin que se haya propuesto. Delito doloso es el intencional.

La Ley Penal 24527/95 en su artículo 247 sanciona al que sin tener título o habilitación correspondiente efectuara acciones propias de una profesión.

También corresponde a penal defraudar, sustituir un documento, destruirlo, certificar en blanco, adulterarlo.

En la misma clasificación son actos de maltrato o crueldad contra animales.

En laboratorios el equipamiento debe ser acorde a las técnicas diagnósticas que se realicen. Su calibración, que debe realizarse en laboratorios habilitados, y/o verificación, es un requisito y es una obligación ética.

Todo el personal debe estar capacitado y ser competente para emitir un resultado válido.

No dejar de notificar enfermedades infecciosas ante organismos, si son de denuncia obligatoria. Se está intentando una red de notificaciones provinciales, luego nacionales.

Se aconseja a quienes realicen estudios histopatológicos la conservación de los tacos, ante eventuales necesidades de control.

Ante necropsias o peritajes sean ordenados en el proceder. Informar los hallazgos, luego conclusiones. Emplear expresión compatible antes de asegurar. Puede convenir dividir en exposición, discusión, comentarios, conclusión.

Ante errores en resultados transmitidos, por falla de equipo, identificación u otra, informar cuanto antes al derivador.

VIRUS QUE AFECTAN A LAS ABEJAS MELÍFERAS EN LATINOAMÉRICA

Antúñez, Karina

Laboratorio de Microbiología y Salud Apícola. Departamento de Microbiología. Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, Uruguay. Sociedad Latinoamericana de Investigación en Abejas.

kantunez03@gmail.com

Las abejas son los principales insectos encargados de la polinización, contribuyendo en gran medida a la producción agrícola, así como al mantenimiento de la biodiversidad en diferentes ecosistemas. Latinoamérica posee cerca de 8.000.000 de colmenas de abejas *Apis mellifera*, aproximadamente el 10% de las colmenas existentes en el mundo; y se producen cerca de 230.000 toneladas de miel anuales (15% de la producción mundial). Además, Latinoamérica posee una gran diversidad de abejas nativas, incluyendo más de 300 especies de abejas sin aguijón. Estas abejas son empleadas por diferentes comunidades rurales para la producción de miel, lo que se conoce como “meliponicultura”.

Durante los últimos años se han reportado altos porcentajes de pérdidas de colonias de abejas melíferas, principalmente en Estados Unidos y Europa, lo que ha ocasionado un importante impacto no solo a los productores apícolas sino en todas las actividades agrícolas dependientes de la polinización. En el marco de la Sociedad Latinoamericana de Investigación en Abejas (SOLATINA), se está llevando a cabo desde el año 2016, un estudio a gran escala para estimar las pérdidas de colonias de abejas melíferas y abejas sin aguijón. Los resultados preliminares muestran datos preocupantes, con altos porcentajes de pérdidas de colonias en diferentes países de la región. Estas elevadas pérdidas impactan directamente en la producción de miel y otros productos de la colmena, así como en el rendimiento de muchos cultivos que dependen de las abejas para la polinización.

Entre las causas involucradas en la pérdida de las colonias a nivel mundial, se encuentra la intensificación en el uso de la tierra, lo que ha ido acompañado de un aumento en la extensión de los monocultivos y una disminución de la diversidad y disponibilidad de polen y néctar para las abejas, generando problemas nutricionales. Además, esta intensificación se ha acompañado de un aumento en el uso de pesticidas (insecticidas, herbicidas, fungicidas). Finalmente, por sus condiciones de vida en comunidad, las abejas son blanco de múltiples plagas y patógenos que afectan severamente su salud. La principal amenaza biótica es el ácaro *Varroa destructor*, un ectoparásito que se alimenta de los cuerpos grasos de las abejas, debilitándolas y pudiendo causar su muerte. Pero además del daño directo causado por este ácaro, es vector de diferentes virus ARN.

Se han descrito múltiples virus que afectan a las abejas melíferas, muchos de los cuales contribuyen significativamente al debilitamiento de la colonia y a su muerte. Los virus que revisten más importancia apícola son el Virus de las alas deformes (DWV), el Virus de la cría ensacada (SBV), el virus de las celdas reales negras (BQCV), el Virus de la parálisis aguda (ABPV) y el Virus de la parálisis crónica (CBPV). Se trata de virus simple hebra de polaridad positiva, en su mayoría pertenecientes al orden Picornaviridae. Cuando los títulos virales son altos, estos virus pueden causar síntomas claramente identificables por los apicultores a nivel de campo, pero en bajos niveles son capaces de permanecer asintomáticos en colonias aparentemente sanas. Por este motivo es importante contar con métodos adecuados de diagnóstico molecular que nos permitan identificar su presencia y/o cuantificar el nivel de infección.

Estos virus se pueden transmitir de forma horizontal, vertical, venérea, o a través de parásitos como el ácaro *V. destructor*. Sin embargo, lo que ha permitido su diseminación a nivel global, ha sido la acción del hombre a través de la comercialización de material vivo (abejas, reinas, etc.). Como consecuencia, el ABPV, BQCV, CBPV, DWV y SBV se encuentran distribuidos alrededor del mundo, habiendo reportes de su presencia en diferentes países de Latinoamérica. Incluso se han detectado en diferentes especies de abejas nativas en nuestra región, como *Bombus atratus*, *Xylocopa augusta* y diferentes especies de abejas sin aguijón, confirmando el derrame de estos patógenos hacia insectos polinizadores nativos.

Si bien en los últimos años las aproximaciones genómicas nos han permitido ampliar enormemente el conocimiento sobre la diversidad de virus que infectan a las abejas, su distribución, sus rutas de transmisión, el impacto a nivel individual y colonial, aún quedan muchos aspectos por dilucidar. Es necesario continuar investigando en esta temática para comprender mejor la relevancia de estos virus y su papel en las pérdidas de colonias.

RESISTENCIA ANTIHELMÍNTICA: ¿QUÉ SABEMOS Y HACIA DÓNDE VAMOS?

Dr. Schapiro, Javier Hernán

Área de Parasitología, Instituto de Patobiología - IPVET, Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias y Agronómicas (CICVyA) INTA Castelar, Buenos Aires (Argentina). Cátedras de Parasitología y de Enfermedades Parasitarias, Escuela de Veterinaria, Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias, Universidad del Salvador. Buenos Aires (Argentina)
schapiro.javier@inta.gob.ar

La resistencia de los nematodos parásitos a los fármacos antihelmínticos es considerada una de las problemáticas más importantes a la que se enfrenta la producción de rumiantes mayores y menores a nivel mundial. Se la definió como la capacidad de una población parasitaria de disminuir su sensibilidad a la acción de uno o más fármacos antihelmínticos, expresándose a través de un aumento significativo de individuos resistentes capaces de tolerar dosis probadamente letales para la mayoría de la población normal (susceptible) de la misma especie. Presenta carácter heredable, es decir que las progenies de los parásitos resistentes también presentarán esta característica. Existen antecedentes documentados de este fenómeno desde el año 1957 donde inicialmente se reportó en EE.UU. con cepas resistentes de *Haemonchus contortus* a la fenotiacina, y en nuestro país los primeros informes en la especie ovina fueron publicados por J. Romero en 1992 en majadas de Bs. As., y en bovinos por O. Anziani *et al.* y C. Fiel *et al.* en el año 2000. A partir de ese momento se comenzaron a informar una cantidad importante de casos de resistencia antihelmíntica (RA) en varios establecimientos ganaderos del país.

Actualmente los antihelmínticos continúan siendo el principal insumo para el control de los nematodos gastrointestinales (NGI) de rumiantes. Se los agrupa en diferentes grupos químicos: benzimidazoles (fenbendazol, albendazol, ricobendazol), imidazotiazoles (levamisol), lactonas macrocíclicas (ivermectina, doramectina, abamectina y moxidectina), derivados del aminoacetónitrilo (monepantel), salicinalidas (closantel), spiroindoles (derquantel) y organofosforados. Estratégicamente, un control ideal debería también contemplar diferentes estrategias de manejo de los animales y de las pasturas. La ausencia de medidas de control concretas que no estén basadas en su empleo contribuyó a que en las últimas décadas hubiera una dependencia casi exclusiva de los mismos. Se puede considerar como un fenómeno multicausal, dado que el uso intensivo e indiscriminado sin considerar criterios epidemiológicos de la enfermedad, en muchas ocasiones en ausencia de diagnóstico que determine la real necesidad de efectuar el tratamiento, con dosificaciones erróneamente calculadas, y rotación ausente o inadecuada de principios activos, condujo inevitablemente a la selección de poblaciones de nematodos resistentes.

En el desarrollo de la RA existen 3 fases:

1- Establecimiento de los genes resistentes: los nematodos sufren modificaciones génicas al azar que les confieren en las primeras etapas cierta resistencia a los tratamientos. Frente a sucesivas desparasitaciones empleando el mismo fármaco la población mayoritariamente susceptible inicialmente muere y sobreviven sólo aquellos individuos resistentes. Luego de varios tratamientos (presión de selección) estos últimos aumentan su población y transmiten alelos resistentes de generación en generación instalando indefectiblemente el fenómeno de RA. Köhler en el 2001 propuso que el principal mecanismo que los helmintos utilizan para adquirir resistencia es a través de modificaciones en los receptores para el fármaco, con disminución o pérdida de la afinidad a los mismos.

2- Difusión de los genes resistentes: los parásitos resistentes difunden en forma oculta desde el lugar donde se produjo el establecimiento de la mutación hacia otras zonas a través del traslado de animales infestados.

3- Emergencia o aparición clínica de la resistencia: se hace visible la falla de eficacia del antiparasitario cuando la proporción de parásitos resistentes alcanza valores cercanos al 25%.

Con el fin de poder establecer un control parasitario racional y preservar la vida útil de los antiparasitarios, resulta de vital importancia lograr una detección temprana de este fenómeno. Estos insumos deben ser escogidos adecuadamente en base a ensayos que determinen su real eficacia, los que deben realizarse al menos una vez al año en cada establecimiento ganadero. La información obtenida contribuirá a establecer un programa de control específico para dicho lugar. Existen dos tipos de ensayos: 1- *in vitro*, poco utilizados y destinados sobre todo a investigación, y 2- *in vivo*, ampliamente utilizados a campo, y que se describen a continuación:

1) Test de Reducción en el Conteo de Huevos (TRCH): estima la eficacia antihelmíntica comparando los recuentos de huevos por gramo de materia fecal (HPG) eliminados previo y posterior a un tratamiento en comparación con un grupo control sin dosificar. Esta metodología está ampliamente difundida ya que es la más conveniente dada su practicidad y posibilidad de evaluar varios antihelmínticos a la vez. Como desventaja presenta baja sensibilidad en las etapas iniciales de RA, pero sí ofrece resultados confiables cuando la proporción de parásitos resistentes es superior al 25%.

2) Prueba de eficacia controlada: es considerada la prueba de oro para evaluar la eficacia de los fármacos antihelmínticos. Es el método más confiable y exacto ya que compara las cargas parasitarias en animales tratados frente a animales controles. No es muy utilizado debido a su principal desventaja que radica en su elevado costo debido a que se requiere de necropsia de animales.

3) Prueba de control de tratamiento: simplemente consiste en evaluar los HPG previo y posterior al instaurar el tratamiento antiparasitario, sin requerir de un grupo control.

Los trabajos de investigación realizados en Argentina confirman que este fenómeno está ampliamente distribuido e instalado en los sistemas productivos. En el año 2004 se realizó el primer relevamiento a nivel nacional a través de un Proyecto de Cooperación Técnica auspiciado por la FAO en la que participaron el INTA y diferentes universidades. Se estudió la prevalencia de la RA en las principales zonas productivas de bovinos y ovinos del país. En los primeros, sobre un total de 69 establecimientos muestreados, los resultados mostraron que sólo el 41% tenían nematodos parásitos susceptibles al tratamiento con todos los fármacos evaluados, y en el restante 59% se presentó 10% de resistencia a benzimidazoles, 7% al levamisol, 55% a la ivermectina, y 13% de resistencia múltiple. Por su parte, en el estudio efectuado sobre 35 establecimientos de producción ovina se observó que sólo el 38% tenían nematodos parásitos susceptibles al tratamiento con todos los fármacos evaluados, y en el restante 62% se presentó 53% de resistencia a benzimidazoles, 25% al levamisol, 50% a ivermectina y 16% de *Haemonchus contortus* resistentes al closantel. Casi una década después (2014-2015), la RIEP (Red Interinstitucional de Investigación y Experimentación en Enfermedades Parasitarias) realizó un nuevo relevamiento nacional de la prevalencia de la RA en 62 establecimientos de cría bovina. Llamativamente se observó que tan sólo el 5% de los establecimientos tenía parásitos sensibles a los fármacos evaluados, mientras que el 95% restante presentó resistencia antihelmíntica. Los resultados observados fueron 94% de resistencia a la ivermectina, 35% al fenbendazol, 28% a ricobendazol, 26% a la combinación de ricobendazol + ivermectina, 33% de resistencia múltiple (ivermectina + benzimidazol) y no se encontraron establecimientos con parásitos resistentes al levamisol. La técnica de diagnóstico empleada en todos los casos fue el TRCH.

En función a lo expuesto, y debido a la amplia distribución de la RA y los niveles alarmantes que esta alcanza en determinados lugares (en bovinos tan sólo un 5% de los establecimientos muestreados aún pueden emplear todos los fármacos evaluados), se hace prioritario plantear cambios en el modo de uso de los antihelmínticos así como también impulsar la búsqueda de herramientas alternativas o complementarias al control farmacológico de estas helmintiasis tendientes a desarrollar un control sostenible de la enfermedad parasitaria. En Parasitología Veterinaria, las metodologías de control alternativo pasaron de ser un campo estrictamente académico a transformarse en una disciplina que adquirió relevancia en busca de una diversificación de estrategias de control.

Pensando un poco en el “hacia dónde vamos” para retrasar o manejar la RA, se describen a continuación brevemente algunas de las actuales tendencias que se encuentran en etapa de investigación:

Fitomedicina

La investigación de plantas y de sus extractos tuvo un crecimiento notorio en los últimos 30-35 años, existiendo un marcado interés para considerarla en las estrategias no químicas para el control parasitario. Dentro de ellas se destacan las plantas polifenólicas o la corteza de ciertos árboles (Eucaliptus, Pino, Acacia, Quebracho, entre otros) que contienen diferentes concentraciones de taninos condensados en su composición. Precisamente sobre estos metabolitos secundarios de las plantas se enfocaron muchos trabajos de investigación por sus efectos nutracéuticos con beneficios sobre la nutrición y sanidad animal. Una de las líneas de investigación que se está llevando adelante en el Instituto de Patobiología (IPVET) de INTA Castelar está vinculada a determinar el efecto antihelmíntico *in vitro* e *in vivo* de diferentes concentraciones de taninos condensados adicionados a la dieta de los animales, así como también a la elaboración y evaluación de extractos vegetales a partir de plantas autóctonas. Con estos se realizan metodologías *in vitro* para determinar la actividad sobre los estadios de huevos (test de inhibición en la eclosión de huevos) y sobre larvas infectivas de parásitos (test de inhibición en la migración larval) en busca de alternativas que puedan sumarse al control de los parásitos.

Selección genética de animales resistentes

Se basa en el empleo de animales que tienen la capacidad inmunitaria de resistir al establecimiento y posterior desarrollo de la infección parasitaria. Esta variabilidad de susceptibilidad a los parásitos se denomina Resistencia Parasitaria y se expresa con valores de HPG inferiores en relación a infestaciones similares de otros animales. Estos animales necesitan de un mínimo número de tratamientos antiparasitarios y pueden utilizarse en estrategias de control sostenibles. Algunos Institutos y Centros del INTA están llevando adelante esta línea de investigación generando importante información al respecto.

Recambio de cepas

Es un proceso de recuperación de la eficacia antiparasitaria basado en el recambio de parte de la población parasitaria que se encuentra en el refugio. Se entiende como refugio a la población de parásitos no expuesta a los tratamientos antiparasitarios. Esto disminuiría la diseminación de la RA ofreciendo una fuente de parásitos susceptibles que generan una dilución de los resistentes que están presentes en la pastura. Se puede efectuar introduciendo una cepa sensible mediante animales destetados portadores sin desparasitar. Es una línea de trabajo que están llevando en forma conjunta profesionales de INTA Balcarce y de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNCPBA.

Sistemas silvopastoriles

Pueden contribuir a reducir las infestaciones por NGI en el contexto de un manejo integrado de control parasitario. La relación existente entre el proceso de descomposición de la materia fecal con la dinámica parasitológica de los nematodos es uno de los factores más determinantes en el comportamiento general de esta parasitosis en estos sistemas. Es de destacar que aquí se favorece el desarrollo de una fauna edáfica representada principalmente por coleópteros coprófagos que participan activamente en los procesos de descomposición de la materia fecal con la consiguiente disminución del número de huevos y de larvas infectivas de NGI, disminuyendo así la contaminación e infectividad de las pasturas.

Control biológico mediante hongos nematófagos

Las principales líneas de trabajo se desarrollaron con el hongo nematófago *Duddingtonia flagrans*. Básicamente consiste en la administración de esporas que atraviesan el tracto gastrointestinal, y el control lo ejercen en la materia fecal donde las hifas producen la captura y la predación de larvas infectivas previo a su migración a las pasturas. Se encuentra aún en etapas de investigación.

Farmacología

Es una estrategia que puede tener diferentes objetivos: 1-modificar la farmacocinética y farmacodinamia de los antiparasitarios, 2-combinación de fármacos que puedan alcanzar un sinergismo, y 3-combinación con otras sustancias (extractos vegetales) que puedan mejorar la actividad inicial del antiparasitario. Se propone a la combinación de fármacos que presentan diferentes mecanismos de acción

como alternativa para retardar la aparición de la RA o bien para controlar poblaciones parasitarias con resistencia diagnosticada. Como condición previa a su uso, no debería existir resistencia cruzada entre los componentes de la combinación.

El desafío está planteado. Nuestra misión es demostrar a la comunidad científica en general que estas alternativas sean sustentables para el control integral del parasitismo gastrointestinal y de la resistencia antihelmíntica, y puedan ser transferidas lo antes posible al sector productivo. Y para esto debemos estar todos juntos: centros de investigación, universidades, veterinarios y productores ganaderos.

DESARROLLO Y TRANSFERENCIA DE UNA NANOVACUNA CONTRA LA COVID-19

Dr. Juan Sebastián Pappalardo

Grupo de Nanomedicina Veterinaria, Instituto de Investigaciones Forestales y Agropecuarias Bariloche (IFAB, INTA-CONICET), EEA Bariloche, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Bote Modesta Victoria 4450, San Carlos de Bariloche, Río Negro, R8403DVZ, Argentina.
pappalardo.juans@inta.gob.ar

El 11 de marzo de 2020 la Organización Mundial de la Salud declaró la pandemia a causa del virus SARS-CoV-2 causante de la enfermedad COVID-19 y el mundo tuvo que adaptarse a una nueva realidad. En ese contexto, en la Estación Experimental Agropecuaria Bariloche del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA EEA-Bariloche), el Grupo de Nanomedicina Veterinaria, estaba planificando ensayos en ratones para evaluar una nueva vacuna basada en nanotecnología y biotecnología contra la linfadenitis caseosa, enfermedad zoonótica que afecta principalmente al ganado ovino y caprino en la región patagónica. En el grupo surgió entonces un interrogante: ¿sería posible contribuir en el desarrollo de una vacuna para responder a esta terrible situación?

Considerando que globalmente se necesitan vacunas por tratarse de una pandemia, es de vital importancia contar con independencia y soberanía científica sobre las tecnologías de desarrollo de vacunas, para contar con la propia.

Cuando el Gobierno Nacional a través del Ministerio de Ciencia y Tecnología (MinCyT) abrió la convocatoria extraordinaria de la Agencia Nacional de Promoción de la Investigación, el Desarrollo Tecnológico y la Innovación (AGENCIA) para Ideas Proyecto IP-COVID-19, no dudamos en escribir una propuesta y presentarnos para obtener financiación y comenzar a trabajar. La idea era evaluar una estrategia similar a la que estábamos planificando para la linfadenitis caseosa, pero para el SARS-CoV-2: La utilización de una tecnología denominada "Plataforma de Nanovacunas" desarrollada por INTA en colaboración con *Northeastern University* (Boston, USA) y la *Università degli Studi di Padova* (Padua, Italia) desde 2006, con patente otorgada en 2018. Dicha tecnología, que permite la formulación de diversas vacunas utilizando nanotecnología y biotecnología se conoce como "Plataforma de Nanovacunas", porque según el antígeno que se usa, la vacuna que se obtiene. Si bien no fuimos seleccionados en esa convocatoria, el proyecto fue valorado positivamente y se sugería la necesidad de contar con una contraparte privada para poder avanzar.

Fue así como se comenzó a buscar una empresa que estuviera interesada en invertir en el desarrollo de una vacuna y se logró el vínculo con Laboratorios Bagó S.A. Luego de varios meses de evaluar y pulir el proyecto entre ambos equipos, se firmó un convenio de Investigación y Desarrollo (I+D) que permitió conseguir el financiamiento necesario para avanzar con los experimentos. El convenio se estructuró en etapas que se irían implementando según los resultados. La primera etapa fue una prueba de concepto de la tecnología, evaluando la respuesta inmune humoral en los ratones, utilizando la Plataforma de Nanovacunas para vehicular ADN plasmídico codificante para una región de la proteína *Spike* del SARS-CoV-2, denominada en inglés "*Receptor Binding Domain*" (RBD). Los resultados fueron muy alentadores y nos impulsaron a seguir avanzando con las etapas siguientes. Estas etapas, que estamos llevando adelante, actualmente nos permitirán evaluar dos aspectos importantes de la vacuna que estamos desarrollando. Por un lado, estudiaremos la capacidad de la vacuna de generar inmunidad celular o memoria inmunológica, es decir, la capacidad de generar una respuesta inmune que le permita al animal vacunado "recordar" el patógeno y montar una respuesta inmune que lo proteja de la enfermedad cuando se encuentre con el mismo. Por otro lado, evaluaremos la seguridad del candidato vacunal, es decir, si la vacuna es tóxica o genera algún efecto adverso en animales de laboratorio.

Nuestra tecnología en detalle

La vacuna que estamos desarrollando entre INTA y Laboratorios Bagó S.A. se basa en liposomas racionalmente diseñados para direccionar moléculas de ADN plasmídico, codificantes para RBD, a células dendríticas. Los liposomas son nanovesículas esféricas formadas principalmente por fosfolípidos, que se utilizan como sistemas de transporte, tanto en industria farmacéutica como cosmética. El direccionamiento se realiza a través del uso de receptores específicos presentes en las células dendríticas y una molécula direccionadora basada en patrones moleculares asociados a patógenos. Esta molécula sintética es novedosa y se usa para direccionar diversos nanovehículos, entre ellos los liposomas, hacia células dendríticas de distintas especies, ya que, a diferencia de los anticuerpos monoclonales, se trata de una molécula "especie inespecífica" lo que permite su utilización tanto en salud animal como salud humana. Las células dendríticas son células clave del sistema inmune por lo cual dirigir la carga de la vacuna hacia las mismas aumenta notablemente la eficacia de la vacuna, ya que son estas células las que expresan los antígenos del SARS-CoV-2 y montan la respuesta inmune.

Es importante destacar, que esta plataforma ya ha sido evaluada por INTA para otros patógenos de interés veterinario, como *Brucella ovis* y *Herpesvirus bovino 1*, con resultados promisorios. Por otro lado, los liposomas son compuestos ampliamente utilizados en medicina humana en diversos fármacos como por ejemplo en la doxorrubicina liposomal, la anfotericina B liposomal, verteporfina liposomal, vincristina liposomal, bupivacaina liposomal, morfina liposomal, irinotecan liposomal, y vacunas tales como Shingrix® herpes zoster liposomal, Inflflex V® influenza liposomal, y las vacunas contra SARS-CoV-2 de ARNm en nanopartículas lipídicas, entre otras, lo que garantiza aspectos vinculados a la seguridad de los mismos. A su vez, las vacunas basadas en ADN plasmídico se encuentran en la actualidad aprobadas para su uso en diversas enfermedades veterinarias e incluso hay varios desarrollos para SARS-CoV-2 en fase clínica, una de ellas, Zydus Cadilla®, recientemente aprobada en India.

La tecnología propuesta, que combina la utilización de liposomas con ADN plasmídico, cuenta con la ventaja de utilizar un sistema de producción simple, económico y escalable y ha sido recomendada por la Organización Mundial de la Salud como la alternativa predilecta en el caso de vacunas para afrontar pandemias en países emergentes.

Las ventajas de esta nanovacuna son su producción económica y escalable, su formulación estable que no requiere sistemas de refrigeración a muy bajas temperaturas para su distribución y capacidad de rápida adaptación a nuevas variantes virales. Vale tener en cuenta que esta tecnología es accesible, rápida en su producción, no necesita *facilities* especiales o con sistemas de bioseguridad alta (costosos).

Esto nos da una ventaja sobre las vacunas a proteína recombinante que no se adaptan fácilmente a variantes, y sobre las vacunas a mRNA, que son muy novedosas pero costosas y necesitan temperaturas muy bajas para el transporte (logística costosa). También la vacuna génica a ADN es ventajosa y segura en relación a las vacunas a adenovirus, ya que estas últimas son cuestionables por varias razones: transportan y liberan una cantidad mucho mayor de ADN, deberían ser evaluadas inmunológicamente a largo plazo ya que al poseer trazas de ADN y proteínas humanas podrían generar problemas (los adenovirus se cultivan en líneas celulares humanas), y también porque se genera una respuesta inmune contra el vector adenoviral, lo que disminuye la efectividad en dosis sucesivas.

NANOBODIES PARA PREVENIR Y TRATAR LA COVID19

Dra. Viviana Parreño
INCUINTA, IVIT, CICV y A, INTA CONICET. Castelar, Buenos Aires, Argentina
parreno.viviana@inta.gob.ar

Durante 2020, en el contexto de la PANDEMIA por el virus SARS CoV.2, el grupo de investigación de INCUINTA en conjunto con el grupo de la Dra. Itati Ibáñez de CONICET desarrollamos una biblioteca de genes de nanoanticuerpos derivados de llamas contra la proteína Spikes del virus de SARS CoV.2. A partir de dicha biblioteca se obtuvieron 53 nanoanticuerpos con diferentes propiedades, capaces de reconocer epitopes de la proteína Spike. Específicamente, 17 de ellos están dirigidos al dominio RBD (receptor binding domain) y poseen diferente grado de actividad neutralizante de la infección *in vitro*, evaluados por un ensayo de pseudo neutralización viral, bloqueando la unión del virus al receptor celular ACE2, y luego confirmado por neutralización utilizando las variantes salvajes circulantes en 2020 en Argentina (aislamientos del Instituto Malbran e INTA) y en Estados Unidos (aislamiento Dr Jonathan Auguste, Virginia Tech). Durante 2021, se avanzó en la puesta a punto del proceso de escalado industrial de producción de los nanoanticuerpos en INCUINTA y lotes purificados de 6 de los clones más neutralizantes se probaron en un modelo ratón en Virginia Tech. Donde se observó que uno de los clones arrojó un 80% de protección a la muerte de los ratones desafiados con el virus al ser administrado como tratamiento preventivo en una única dosis de 10 ug por vía intranasal, otros lotes protegieron al 60% de los ratones en una dosis de 20 ug. Los resultados preliminares obtenidos hasta el momento resaltan la importancia de los nanoanticuerpos derivados de camélidos como una potencial terapia para prevenir y tratar la COVID19.

Análisis descriptivo de los resúmenes presentados en las ultimas 10 Reuniones Científico–Técnicas de la AAVLD, 2002–2021

Dr. Ernesto Spath

En los últimos 20 años la AAVLD organizó 10 Reuniones Científico Técnicas (RCT XIV^a a XXIII^a) en distintas ciudades del país. En este breve trabajo se analiza a través de gráficos simples la evolución temporal de la frecuencia de presentación de los resúmenes teniendo en cuenta su temática, pertenencia institucional y localización geográfica del primer autor, especies hospedadoras y agentes etiológicos objeto de los estudios. Solamente se analizan las características de los resúmenes y no se incluyen las conferencias u otros informes y actividades realizados por las Comisiones Científicas específicas.

En las 10 RCT analizadas se presentaron 1225 resúmenes y 175 conferencias (Gráfico 1); participaron como autores de los resúmenes 7179 profesionales; muchos de ellos se repiten en diferentes años y resúmenes. El número promedio de autores de los resúmenes fue 6 (rango 1 a 13), siendo esta cifra bastante constante a lo largo de los 20 años, variando entre 4,8 a 6,8 autores por resumen).

Tradicionalmente los resúmenes de las RCT fueron agrupados en secciones temáticas, aunque en algunas RCTs hubo variantes, por lo cual se agruparon para un análisis estandarizado en las 8 secciones tradicionales. Bacteriología, Epidemiología y Parasitología fueron las tres secciones temáticas más frecuentes (Gráfico 2).

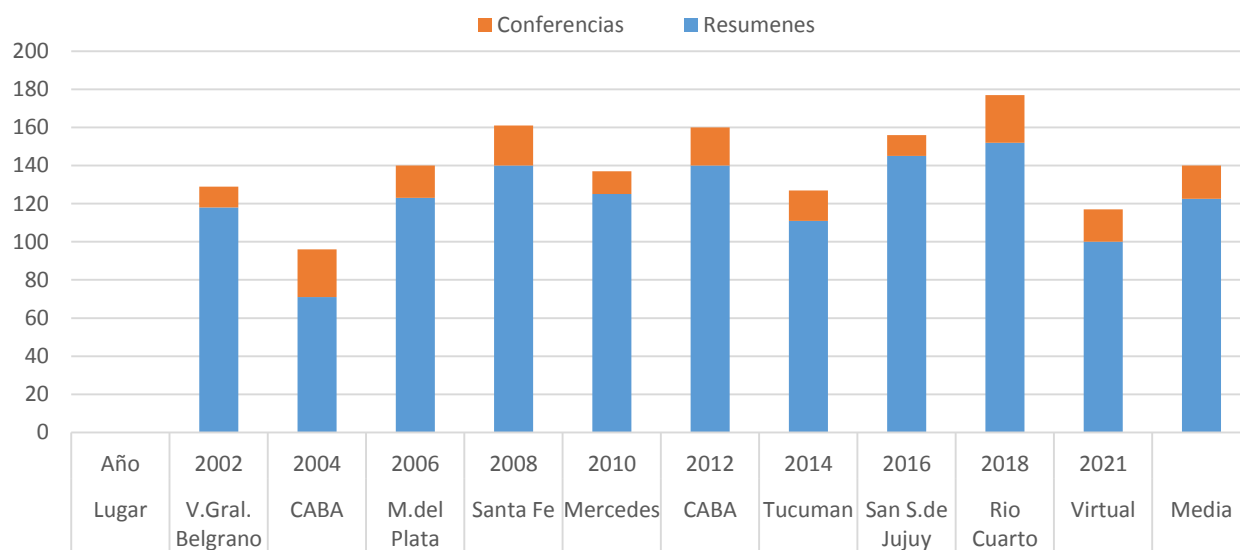
La pertenencia institucional de los primeros autores se sistematizó en 12 grupos, los más frecuentes fueron el INTA, las Universidades y el sector privado (Gráfico 3). Sin embargo, en la mayoría de los resúmenes estas dos instituciones y el sector privado estaban asociadas con otras instituciones u organismos municipales, provinciales y nacionales, lo cual no fue cuantificado en este análisis.

Los primeros autores de los 1225 resúmenes provenían de 54 localidades pertenecientes a 22 provincias, la Ciudad Autónoma de Buenos Aires (CABA) y del exterior. La provincia de Buenos Aires, CABA y Santa Fe fueron las regiones con mayor número de resúmenes (Gráfico 4).

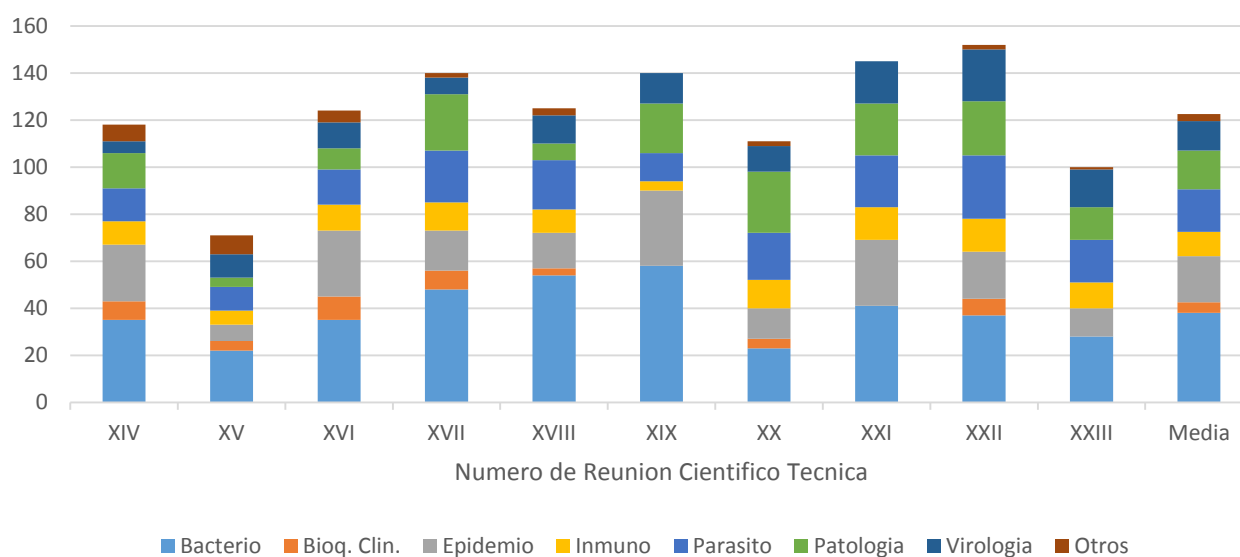
Las especies motivo de los estudios fueron 15 domésticas, mientras que las de laboratorio, silvestres y otras constituyeron otros 3 grupos. Las 3 especies más frecuentes fueron la bovina, canina y porcina (Gráfico 5).

Los agentes etiológicos fueron agrupados en 7 grupos; 5 específicos (bacteriana, parasitaria, viral, metabólico-nutricional y toxica) y dos grupos de otras y varias especies. Las 3 etiologías más frecuentes fueron la bacteriana, parasitaria y viral (Gráfico 6).

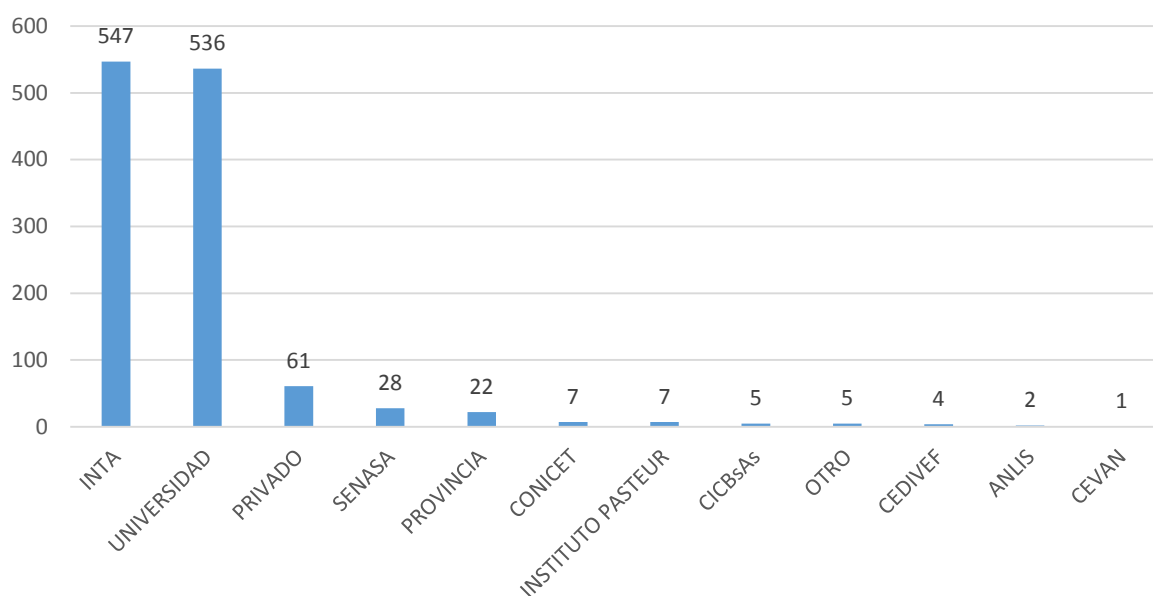
1. Número de conferencias y artículos científicos presentados en las últimas 10 Reuniones Científico-Técnicas de la AAVLD



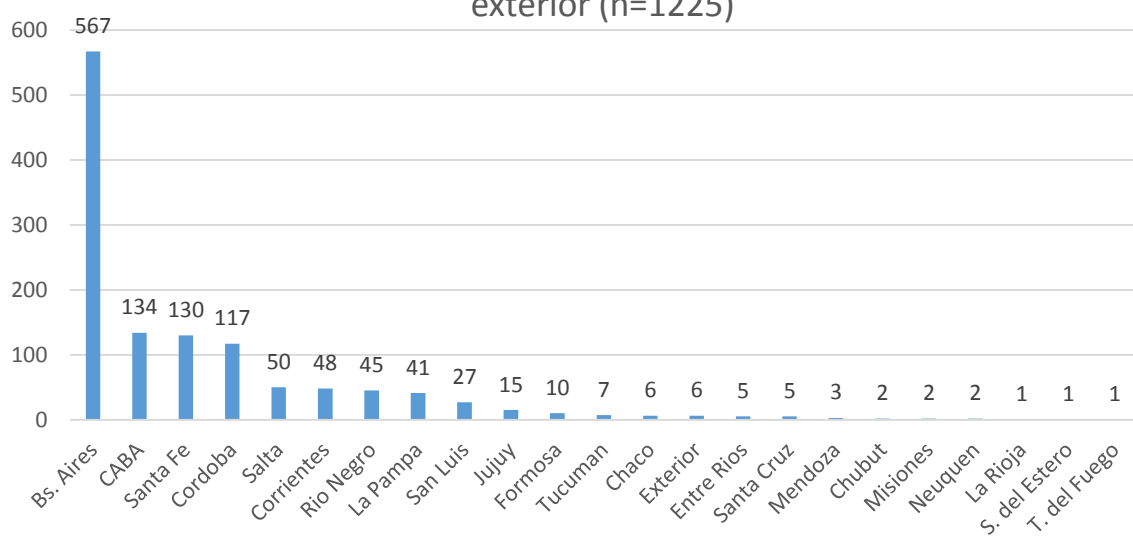
2. Distribución temporal de los artículos por sección temática (n=1225)



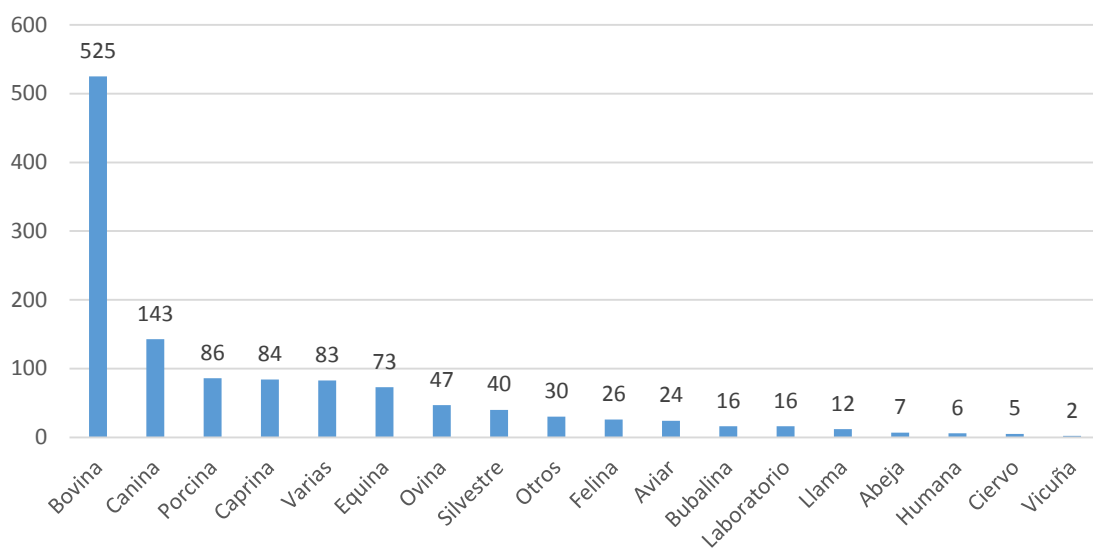
3. Pertenencia institucional del primer autor (n=1225)



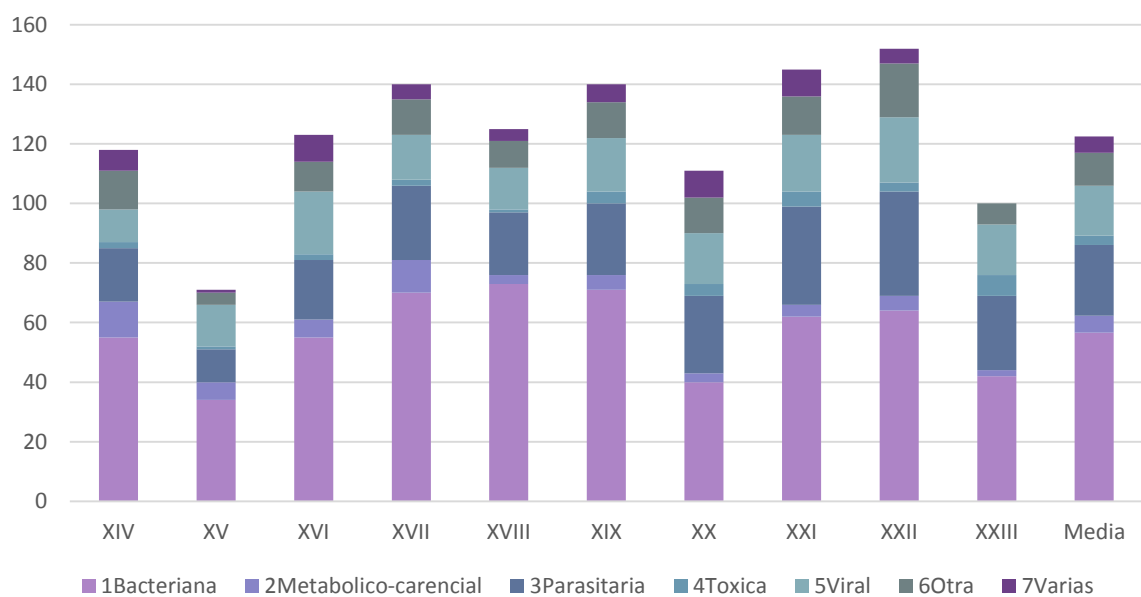
4. Origen geográfico del primer autor: provincias, CABA y exterior (n=1225)



5. Especie huésped objeto del estudio (n=1225)



6. Distribución temporal de los artículos por su etiología (1225)



RESÚMENES TRABAJOS CIENTÍFICOS

BACTERIOLOGÍA

B1-CONTAMINACIÓN DE *ESCHERICHIA COLI* PRODUCTOR DE TOXINA SHIGA EN CARNE BOVINA DE TIERRA DEL FUEGO Y RELACIÓN CON LA PRESENCIA DE RESIDUOS DE ANTIMICROBIANOS

A. Broglio^{1,2}, E. Crespi^{1,2}, M.V. Rumi¹, G. Albarellos³, L. Ambros³, A. Bentancor¹

¹ Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Microbiología, ² Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, ³ Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Farmacología. aben@ivet.uba.ar

Introducción. El concepto “Una sola Salud” propone un abordaje interdisciplinario para minimizar el impacto de las enfermedades que impactan en la salud humana y animal, así como las que ocasionan grandes pérdidas económicas. Dentro de las enfermedades infecciosas humanas se destaca por sus costos directos e indirectos en los sistemas de salud el síndrome urémico hemolítico (SUH) y las infecciones causadas por bacterias multiresistentes. Entre los agentes causales de SUH, *Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC), es responsable de enfermedades de transmisión alimentaria con una dosis infectiva muy baja (< 100 UFC/g). La principal fuente de infección señalada para el hombre es la carne bovina molida. Si bien en Buenos Aires se observó hasta 25% de contaminación de STEC en carne en puntos de venta¹, en Tierra del Fuego (TDF) donde la tasa de infección de SUH es de las más elevadas de Argentina², datos previos indican que ha sido menor al 1%. La carne que abastece el mercado de TDF proviene en su mayoría de animales que son criados en la isla. TDF cuenta con 2 playas de faena, ambas municipales, con faena mixta bovina y ovina. Una se encuentra en Ushuaia y la otra en Río Grande. En ellas, no se utilizan sobre las medias reses ni desinfectantes ni antimicrobianos (ATM). Su presencia justificaría la baja carga de STEC detectada, pero podría sugerir que se hayan administrado al animal prefaena y quizá no se cumpla con los períodos de retirada correspondientes. Hasta donde tenemos conocimiento no hay evaluación de presencia de ATM en la carne de TDF ni estimación de los perfiles de resistencia en la microbiota acompañante. El **objetivo** del trabajo fue analizar si la baja carga de STEC como contaminante en las muestras analizadas podría corresponder a la presencia de residuos de ATM en la matriz cárnica.

Materiales y métodos. Se realizó una ronda de muestreo en las 112 carnicerías de TDF según registros municipales durante marzo de 2019. Las muestras se recolectaron por compra, fueron congeladas y transportadas freezadas vía aérea a Buenos Aires y de allí inmediatamente al laboratorio de Microbiología (FCV-UBA). Las muestras se procesaron según el algoritmo propuesto para STEC O157:H7 y no-O157 en concordancia al protocolo de FSIS/USDA 2014, utilizando 325g de muestra. En el algoritmo de O157:H7 se incorporó un tamizaje con dispositivos de flujo lateral para la detección del serogrupo O157 (Hygienica®) según las recomendaciones del proveedor, para definir la utilización de inmunocaptura en la ruta diagnóstica de las muestras sospechosas. Para la detección de *stx1/stx2* y *rfbO157* se utilizó la metodología de tamizaje por PCR múltiple según el esquema de calificación externo en el que participó el laboratorio (Statens Serum Institut: EQ4, 2013 y EQ5, 2014).

Considerando la emergencia de resistencia a ATM se analizó en al menos 38% de las muestras de carne (seleccionadas al azar dentro del grupo en estudio) la detección de cefalexina, enrofloxacin y estreptomycin. Se utilizó cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) en el primer caso y, para el resto, enzoinmunoensayo con el kit de Ridascreen®.

Resultados. Se recolectaron 110 muestras de carne molida. Se identificó la presencia de los marcadores genéticos de la toxina Shiga (*stx1* o *stx2*) en 6/110 muestras, lo cual permitió caracterizarlas como positivas potenciales de STEC. En 2/6 positivas potenciales se confirmó la presencia de STEC por aislamiento. Ambas cepas eran portadoras de *stx2* en forma exclusiva. No se detectó la presencia de STEC O157 en ninguna muestra. Al analizar la presencia de residuos ATM en

la matriz cárnica, se obtuvieron valores para cefalexina <0,10 µg/g en 42 muestras analizadas, para estreptomycin <0,02 µg/g en 81 muestras y para la enrofloxacin <0,01 µg/g sobre 78 muestras estudiadas.

Discusión y conclusiones. Se reconoce que la principal vía de transmisión de STEC es la oral-fecal, asociada a contaminación de alimentos. La OMS clasifica esta enfermedad como Enfermedad de Transmisión Alimentaria, caracterizada por una baja carga infectiva (< 100 bacterias/gramo). Más de 100 serotipos con el mismo potencial patógeno han sido aislados de casos clínicos³ y la carne se ha asociado como fuente de infección en el 50% de los casos en Argentina⁴. La contaminación a través de la cadena productiva aumenta progresivamente hasta alcanzar 25% en los locales de expendio en Buenos Aires¹. Los resultados obtenidos en este estudio difieren considerablemente de los niveles de contaminación registrados en otros puntos del país. Es posible que el clima oceánico subpolar de TDF influya en el control de la carga bacteriana, ya que afecta a todo el proceso desde la faena hasta el punto de venta, y colabora en mantener la calidad del producto. La congelación hasta el procesamiento, podría influir negativamente en la detección del patógeno particularmente si se parte de una baja carga. No puede descartarse que a diferencia de lo observado en trabajos previos⁵, la carga de STEC al momento del procesamiento esté por debajo del límite de detección del ensayo. Los protocolos de identificación han sido validados en el sistema de calificación externo y se incluyó el uso del sistema de flujo lateral cuyo límite de detección de O157 es de 4 UFC cada 100 g de muestra, con resultados negativos. Los ATM en medicina veterinaria son las drogas más comúnmente administradas. Si bien su empleo es objeto de constante análisis, muchas veces las pautas empleadas no garantizan el uso racional de los mismos⁶. Varios son los grupos de drogas utilizadas en la producción bovina, la aparición de formulaciones diseñadas para esta especie, como ser cefalexina de depósito, estreptomycin (asociada a penicilina G), enrofloxacin, conducen a un aumento en la frecuencia de su uso empírico. La presencia de los mismos podría influir en los resultados de contaminación por STEC, por lo que fueron analizados en este trabajo. La concentración detectada de dichos ATM fue menor al límite de detección de cada ensayo, la cual al ser menor a la CIM de *E.coli*⁷, permite descartar que la baja carga de contaminación con STEC sea por efecto de los ATM analizados. Los resultados obtenidos permiten considerar que la carne molida de venta al consumidor no sería el factor crítico que explica la alta tasa de SUH en TDF. Este resultado no está enmascarado por la presencia de residuos de los ATM ensayados. Si bien otros residuos podrían estar implicados, se debe considerar diversas fuentes de contaminación de STEC para la población de TDF. Dada la alta tasa de SUH en la Isla de TDF, es necesario evaluar aquellas alternativas que podrían ser de impacto local.

Bibliografía

- Etcheverría, A. y col. (2010) *Meat Science* 86: 418-421.
- Ministerio de Salud Argentina (2020). BIV 481 SE02/2020.
- Mead, P.S. y Griffin, P.M. (1998). *Lancet*, 10:1207-12.
- Rivas, M. y col. (2008) *Emerg. Infect. Dis.*, 14:763-77.
- Miccio, L. y col. (2011) *Invet* 13:37-44.
- Hao, H. y col. (2014). *Front. Microbiol.* 5:288.
- CLSI 2019.

B2-FRECUENCIA DE AISLAMIENTO DE BACTERIAS QUE PRODUCEN INFECCIONES EN LAS VÍAS URINARIAS EN CANINOS

C.S. Cacciato ^{1,2}, M.L. Chiapparrone ¹, J. Cantón ¹, S. Martínez ^{3,4}, M.J. Del Sole ^{3,4}

¹Laboratorio de Microbiología Clínica y Experimental, Departamento de Sanidad Animal y Medicina Preventiva, Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN), Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNCPBA), ²Comisión de Investigaciones Científicas (CIC) (CIVETAN-FCV-UNCPBA), ³Hospital Escuela de Pequeños Animales (HEPA-FCV-UNCPBA), Centro de Investigación en Medicina Veterinaria Traslacional (MEVET), ⁴CIVETAN-FCV-UNCPBA, Tandil, Buenos Aires, Argentina. cacciato@vet.unicen.edu.ar

Introducción. Las infecciones urinarias (ITU), se pueden desarrollar cuando hay un desbalance en los mecanismos de defensa del huésped, lo que permite la adherencia, multiplicación y persistencia de microbios virulentos en el tracto urinario. Entre las especies bacterianas que colonizan con mayor frecuencia el sistema urinario en caninos, se encuentran bacterias aerobias Gram negativas, causantes de la mayoría de los casos de esta enfermedad, seguido de cocos Gram positivos. Los microorganismos aislados más frecuentemente son: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus* spp. y *Enterococcus* spp. El cultivo de orina es una prueba de laboratorio de uso frecuente y de elección para la confirmación de las ITU, se suele solicitar junto con el antibiograma para la selección del antibiótico a utilizar y/o en caso de haber instaurado el tratamiento, corroborar la elección del mismo. La muestra clínica de elección es la orina tomada por cistocentesis para evitar el efecto de arrastre de microorganismos de las vías urinarias bajas.

El objetivo del presente trabajo es reportar la frecuencia de aislamientos bacterianos a partir de muestras de orina de caninos con ITU que fueran remitidas al Laboratorio de Microbiología Clínica y Experimental (FCV-UNCPBA) entre 2018 y 2021.

Materiales y métodos. Las muestras de orina obtenidas por cistocentesis, provinieron mayoritariamente del Hospital Escuela de Pequeños Animales (HEPA-FCV-UNCPBA) y de veterinarias de actividad privada. Una vez recibida la muestra de orina, debidamente envasada, conservada e identificada, se procede a su análisis bacteriológico. La muestra de orina se siembra en Agar Tripteína Soya (ATS) suplementado con 10% de sangre bovina y en medio Cistina Lactosa Deficiente en Electrolitos (CLED). En este último caso, la placa se divide en tres partes iguales y con ansa calibrada, se realizan estrías onduladas en cada tercio. Ambos medios se incuban a 37 °C en atmósfera aerobia y a las 24 h se registra el desarrollo de colonias. A continuación se realiza la identificación por observación microscópica y pruebas bioquímicas de rutina de acuerdo a lo descripto por la bibliografía de referencia. Luego de identificados los microorganismos involucrados en las ITU, se realiza el antibiograma de acuerdo a lo establecido por el CLSI para cada microorganismo, la patología específica y la especie animal afectada.

Resultados. De un total de 53 (100%) muestras remitidas, 40 (75,5%) tuvieron aislamiento positivo y 13 (24,5%) fueron negativas.

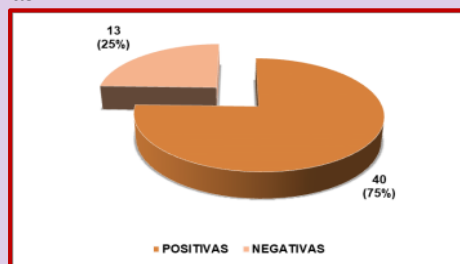


Gráfico. Número y porcentaje de muestras de orina con aislamiento positivo y negativo.

La frecuencia de aislamiento fue de 15 (37,5%) para *E. coli*, 9 (22,5%) para *Enterococcus* spp., 6 (15%) para *Staphylococcus* spp., 4 (10%) para *Proteus* spp., 2 (5%) para *Pseudomonas* spp., 2 (5%) para *Corynebacterium* spp., 1 (2,5%) para *Enterobacter* spp. y 1 (2,5%) para estreptococos beta-hemolíticos.

Discusión y conclusión. Con respecto a los resultados de aislamientos negativos (24,5%) a partir de muestras de orina tomadas por cistocentesis, se infiere que podría deberse a microorganismos no detectados por las técnicas habituales de cultivo, causas no infecciosas de la inflamación del tracto urinario como tumores, patologías tóxicas, metabólicas, entre otras. La frecuencia de aislamiento de los principales agentes bacterianos coincide con lo reportado por la bibliografía de referencia. Más del 70% de las infecciones urinarias en los perros, son causadas por especies bacterianas comunes. De acuerdo a lo descripto por Barsanti (2012), *E. coli* es la bacteria más frecuentemente aislada entre un 37% a 55% de las ITU. Estos resultados coinciden con los obtenidos en nuestro trabajo donde la frecuencia de aislamiento para *E. coli* fue de 37,5%. Luego le siguieron los cocos Gram positivos, *Enterococcus* spp., *Staphylococcus* spp. y estreptococos beta-hemolíticos (20%), cuyos resultados también coinciden con lo descripto por el mismo autor quien informa entre 23 y 30% de frecuencia de aislamiento para estos patógenos. Con respecto al aislamiento de *Proteus* spp., *Pseudomonas* spp., *Corynebacterium* spp. y *Enterobacter* spp., la frecuencia de aislamiento es menor y se corresponden con casos aislados.

Si bien el objetivo de este trabajo no es analizar la sensibilidad antimicrobiana de las bacterias más frecuentes que causan ITU, es importante reflexionar sobre la relevancia del conocimiento de los patrones de aislamiento y sensibilidad a los antimicrobianos de uso rutinario. Finalmente, concluir en la importancia de la toma de muestra de orina por cistocentesis para realizar el cultivo, una técnica de bajo costo que no sólo permite la confirmación de las ITU sino también realizar el antibiograma y así seleccionar el antibiótico a utilizar para lograr una rápida remisión del cuadro y así, evitar consecuencias para el animal en lo que a recaídas y desarrollo de resistencia antimicrobiana se refiere.

Bibliografía

- J. Chew Dennis, DVM, DACVIM (Internal Medicine), Robin Richardson, RVT, College of Veterinary Medicine, The Ohio State University, Columbus, OH. Canine Urinary Tract Infections: Diagnosis and Treatment Strategies. VetFolio-NAVC-Conference 2013. Small Animal. Nephrology and Urology.
- J.A. Barsanti. Chapter 90 Genitourinary infections. En: Green-Infection Diseases of the Dog and Cat. 4 th Edition. 2012.
- A. Morán Blanco. S.I. Sierra González, M.C. Araujo Uribe. Trabajo de investigación. Prevalencia de bacterias que producen infección en las vías urinarias en caninos y felinos y su sensibilidad a los antibióticos durante 2014-2015. Grupo de investigación INCA-CES. Línea Medicina y Cirugía. Facultad de Medicina y Zootecnia. Universidad CES-Medellín (2017).
- C. Petreigne. Diagnóstico de infección urinaria en un canino macho. FCV - UNCPBA (2017).
- C. Pigrau. Infecciones del tracto urinario. Editorial SALVAT (2013).

B3-ESTUDIO SEROEPIDEMIOLÓGICO DE LA INFECCIÓN POR *Leptospira* spp. EN EQUINOS DEL SUR DE LAS PROVINCIAS DE SANTA FE Y CÓRDOBA

¹S E Francois, ¹G L Poli, ²V I Cane, ¹L M Anthony, ²N B Pereyra

¹Servicio de leptospirosis de la Cátedra de Microbiología, ²Cátedra de Microbiología. Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Rosario. Bv. Spangemberg y Bv Colón s/n, (2170), Casilda, Santa Fe. silvinafrancois@fcv.unr.edu.ar

Introducción

La leptospirosis es una enfermedad infecciosa bacteriana, causada por serovares patógenos de *Leptospira* spp. Afecta a los animales y se transmite a los humanos, principalmente en áreas con clima templado o tropical, donde las condiciones de temperatura y alta humedad causada por lluvias intensas son favorables para la sobrevivencia de la bacteria. En Argentina, es endémica y la mayor cantidad de casos se registra en la región de la Pampa húmeda.⁴ En los equinos, la leptospirosis ha adquirido importancia por las consecuencias económicas que ocasiona. La enfermedad puede ser clínica o subclínica. Por lo general es de carácter leve o sub-clínico, no obstante, pueden producirse abortos o mortalidad peri-natal, trastornos respiratorios y cuadros de uveítis recurrente o iridociclitis.^{1, 3, 4} En Argentina, se reportó un caso en el que una yegua de polo abortó sin presentar signología previa al aborto.³ Se han aislado gran cantidad de serovares en equinos infectados, siendo los principales, los pertenecientes a los serogrupos Pomona y Grippotyphosa, pero también se han encontrado Icterohaemorrhagiae, Autumnalis, Sejroe, Canicola y Ballum.⁵ Los estudios serológicos han revelado que la exposición de los equinos a las leptospirosis es bastante común y se los considera hospedadores de mantenimiento del serovar Bratislava.^{1, 2, 5} El objetivo del estudio fue: determinar la tasa de seropositividad a *Leptospira* spp. y la frecuencia de detección de los principales serogrupos que infectan a equinos del sur de las provincias de Santa Fe y Córdoba.

Materiales y Métodos

Se realizó un estudio observacional descriptivo en una población de 96 equinos (*Equus caballus*), de distintos sexos, razas y edades, proveniente del sur de Santa Fe y Córdoba. Se analizaron dos grupos: grupo 1, constituido por 40 muestras de suero sanguíneo, 20 correspondientes a machos y 20 a hembras, con signología clínica sospechosa de leptospirosis, remitidas para su análisis mediante la técnica de aglutinación microscópica (MAT) y el grupo 2, de 56 equinos, 21 hembras y 35 machos, sin signología clínica, cuyas muestras habían sido remitidas para el análisis control de Anemia Infecciosa Equina. No se obtuvieron detalles de razas ni edades, pero todos los animales eran adultos. Las muestras de sangre se obtuvieron por punción venosa y los sueros fueron refrigerados a -20°C hasta su análisis mediante la MAT. Se emplearon cepas de referencia de serovares representativos de 12 serogrupos de *Leptospira* spp.: Pomona, Pomona, Pomona; Icterohaemorrhagiae Copenhageni, M 20, Canicola, Canicola, Hond Utrech IV, Australis, Bratislava, Jez Bratislava, y Australis, Ballico, Pyrogenes, Pyrogenes, Salinem, Sejroe, Hardjo, Hardoprajitno, y Wolffi, 3705, Autumnalis Autumnalis, Akiyami A de *Leptospira interrogans*; Grippotyphosa Grippotyphosa, Moskva V de *L. kirschneri*; Ballum Castellonis, Castellón 3 y Tarassovi, Tarassovi, Perepelitsin de *L. borgpetersenii*. La dilución de los sueros utilizada como punto de corte fue de 1:100.

Resultados

En el grupo 1, se hallaron 24 sueros reactivos, con una tasa de seropositividad del 60%. Dentro de los mismos, se pudo observar que 9 (37,5 %) reaccionaron frente a un único serovar, de los cuales 4 eran hembras y 5 machos. El prevalente fue Pomona (7/9), con títulos de 1:100 a 1:400, seguido por Copenhageni (2/9) con 1:100. En 15 (62,5%), 7 hembras y 8 machos se observó reactividad cruzada frente a más de un serovar. El título más elevado (1:400), se observó en tres de las reacciones cruzadas, en un caso para Pomona, en otro para Copenhageni y en otro para Castellonis. Dentro del grupo 2, se detectaron 44 serorreactivos, con una tasa de seropositividad del 78,57%. Los sueros reactivos frente a un serovar fueron 9 (20,45%), 3 hembras y 6 machos, prevaleció Autumnalis (8/9) seguido por Bratislava (1/9), con título de 1:100. En 35 (79,54%) sueros, 12 hembras y 23 machos, se observaron reacciones

cruzadas, destacándose en una oportunidad el título más alto de 1:400 para Pomona.

Discusión y Conclusión

Los equinos del estudio no habían recibido vacunas contra *Leptospira*, por lo tanto se presume que los títulos de anticuerpos hallados se debieron a un contacto con los antígenos en forma natural. Para el grupo 1, de equinos con sospecha clínica de la enfermedad, tanto la tasa de seropositividad hallada como la reactividad serológica detectada frente a serovares de los serogrupos Pomona e Icterohaemorrhagiae, estuvieron en concordancia con las registradas por autores de estudios previos realizados en equinos, tanto a nivel internacional como nacional y en la provincia de Santa Fe.^{4, 5} Los resultados coincidieron también en que en los animales con sospecha clínica de la enfermedad, Pomona fue el serogrupo más prevalente y frente al cual se registraron los títulos más altos.^{4, 5} Dentro del grupo 2, se halló una alta tasa de seropositividad, considerando que se trataba de caballos asintomáticos. Este hecho podría sugerir que la mayoría de las infecciones por leptospirosis en equinos son inaparentes.^{1, 4, 5} Varios reportes afirman que la leptospirosis subclínica es común en esta especie y que a pesar de hallarse tasas de seropositividad elevadas, son pocos los equinos con signos clínicos, lo que representa un riesgo potencial para la salud de las personas y otros animales de su entorno natural.^{1, 2, 3, 4}. Además, se pudo observar, por un lado, reactividad con títulos de anticuerpos bajos al serovar Bratislava que tendría al equino como especie hospedadora.^{1, 2} En relación a esto, nuestros resultados sugieren que el serovar Autumnalis también podría encontrarse adaptado al hospedador equino, debido a la alta frecuencia de detección y los títulos bajos registrados.^{1, 2} Por otro lado, en ambos grupos se halló un mayor porcentaje de serorreactivos que expresaron reacciones cruzadas, principalmente en el grupo 1, donde se destacó el título más elevado $\geq 1:400$ para los serovares/serogrupos detectados mayoritariamente. Este hecho también fue reportado por otros autores, que relacionaron al serogrupo de mayor título con la posibilidad de ser el causante de la infección real.¹ En el grupo 1, no se observaron diferencias considerables entre los sexos y en el grupo 2 predominaron los machos serorreactivos, pero quizás se debió a que se analizaron en mayor cantidad.

Bibliografía

1. Goday Mariezcurrena, FJ. Caracterización de la población de equinos con sospecha de leptospirosis remitidos al laboratorio DILAVE-DGSG-MGAP en los últimos cinco años. [en línea] Tesis de grado. Motvide:Udelar.FV,2018.<https://hdl.handle.net/20.500.12008/25150>
2. López Pérez M, Ortega Sánchez C, Atilano López D, de la Peña Moctezuma A. Detección de anticuerpos contra *L. interrogans* en equinos dedicados a la producción de sueros hiperinmunes. *Vet. Mex.* 29 (2). 1998.
3. Micheloud JF, Martínez M, Zurita SG, Grune S, Romero G, Brihuela B. Aborto por *Leptospira* en una yegua en Salta, Argentina. *Revista FAVE – Sección Ciencias Veterinarias* 14, 38-41.2015.
4. Schmeling, MF, Arn, E, De Marco, PL, Vanasco, NB. Utilidad del serodiagnóstico de leptospirosis en equinos aparentemente sanos. *Revista FAVE - Ciencias Veterinarias* 8 (2). 2009.
5. Toriz-Suarez, O, Pérez-Rivero, J, Herrera-Barragán, A, Torres-Barranca, J, Lombardero-Goldaracena, G. Frecuencia de leptospirosis en equinos: revisión de literatura. *Abanico Veterinario*, 11:1-16. 20

B4-GENOTIPOS DE *MYCOBACTERIUM BOVIS* AISLADOS DE ANIMALES DOMÉSTICOS Y SILVESTRES DE LA REPÚBLICA ARGENTINA: ESTUDIO RETROSPECTIVO

S. Barandiarán^{1,3}; M.J. Zumárraga²; M.J. Marfil¹; L. Ponce¹; Piras¹, I., Rosso Copola¹, P., E. Falzoni¹; M. Martínez Vivot¹ Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Enfermedades Infecciosas. ²Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular (IABIMO), INTA-CONICET, Hurlingham, Buenos Aires. ³CONICET-Universidad de Buenos Aires. Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA). Buenos Aires. Argentina. sbaran@fvet.uba.ar

Introducción. La tuberculosis bovina (TBb) es una enfermedad zoonótica, crónica, producida por *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*). Afecta principalmente al ganado bovino, pero puede infectar a otras especies domésticas y silvestres. Está incluido dentro del complejo *Mycobacterium tuberculosis* (CMT) que incluye otras micobacterias patógenas y zoonóticas. Las medidas del Plan Nacional de Control y Erradicación de la Tuberculosis Bovina son la inspección veterinaria en las playatas de faena, la normativa de pruebas diagnósticas, el sacrificio de animales positivos y la notificación de la enfermedad al SENASA. La detección de lesiones compatibles con tuberculosis (LCT) durante la inspección bromatológica es la última barrera sanitaria de protección para el consumidor. El difícil control y erradicación de la TBb está dado por diferentes características epidemiológicas, incluyendo la capacidad de infectar a casi la totalidad de los mamíferos, la existencia de reservorios silvestres, la capacidad de latencia en el huésped, y las limitaciones en las técnicas diagnósticas. En el mundo, se identificaron diferentes especies de vida libre como reservorios de TBb: el tejón, el ciervo colorado, la zarigüeya, el búfalo, el antílope y el jabalí. En Argentina, si bien se ha reportado la infección por *M. bovis* en animales silvestres, no se han determinado reservorios que ocupen roles epidemiológicos importantes en el mantenimiento y la transmisión de la TBb. Otra limitante es la detección de la enfermedad. El cultivo bacteriológico es la técnica de oro para el diagnóstico de la TBb, aunque no alcanza para caracterizar la especie de micobacteria presente y son necesarias pruebas bioquímicas que enlentecen mucho el diagnóstico. Las técnicas moleculares han permitido la identificación de los aislamientos en forma más rápida. La amplificación de la secuencia de inserción 6110 identifica a las micobacterias pertenecientes al CMT y otras técnicas moleculares logran la diferenciación de especie y su genotipificación. La epidemiología molecular permite relacionar los aislamientos obtenidos de diferentes especies a lo largo del tiempo y determinar su frecuencia en determinadas regiones. El polimorfismo de la región de repeticiones directas (DR) (específica del genoma de las micobacterias), permite identificarlas dentro del CMT y diferenciar cepas dentro de una misma especie de micobacteria. La región DR presenta secuencias polimórficas (espaciadores) intercaladas entre las repeticiones directas y constituye el principio de la técnica de Spoligotyping. La presencia o ausencia de estos “espaciadores” definen patrones de hibridación o “espoligotipos”, y permiten la identificación de especie y cepas. El Spoligotyping es una herramienta muy utilizada en epidemiología molecular para conocer la frecuencia de cepas de *M. bovis* en un período de tiempo determinado en aislamientos de diferentes especies. El **objetivo** de este trabajo fue reportar los diferentes espoligotipos obtenidos a partir de aislamientos de *M. bovis* detectados en animales domésticos y silvestres de la Argentina, remitidos al laboratorio de Enfermedades Infecciosas de la Facultad de Ciencias Veterinarias (UBA) entre 2000 y 2020.

Materiales y métodos. Se seleccionaron 382 aislamientos de *M. bovis* de animales domésticos y silvestres presentes en la Argentina en determinadas regiones en un lapso de 20 años. Las especies involucradas fueron: bovinos, porcinos, ovinos, búfalos, perros, gatos, jabalí, cerdos cimarrones, ciervos, pecaríes, venado de las pampas, mono araña y leopardo de las nieves, provenientes de Buenos Aires, Córdoba, Entre Ríos, Río Negro, Corrientes, Chaco, Mendoza, La Pampa, Salta y Santa Fe. Todos los aislamientos fueron identificados por PCR-*IS6110* y genotipificados por Spoligotyping, según el protocolo descripto por Kamerbeek y col., (1997). Se amplificó la región DR utilizando un primer biotinilado. Los productos de PCR se hibridaron en una membrana de Nylon (Mapmygenome, India) conteniendo los oligonucleótidos espaciadores fijados

covalentemente y las muestras fueron sembradas transversalmente utilizando un miniblottter, produciéndose una hibridación formando un patrón de puntos. Los espoligotipos fueron identificados en las bases de datos locales (IABIMO, INTA-CONICET) y en la internacional de la Universidad Complutense de Madrid (www.mbovis.org). Las frecuencias de los distintos espoligotipos fueron estimadas y comparadas para las distintas especies estudiadas.

Resultados. Se identificó 44 espoligotipos en 10 provincias diferentes. Se detectó TBb en 6 especies domésticas y 7 especies silvestres. El espoligotipo más detectado fue el SB0140 (186/382, 48%) siendo el espoligotipo históricamente predominante en el país (46%) tanto en animales como en humanos. El segundo en frecuencia fue el SB0130 con un 8% (30/382) de los aislamientos. Ambos espoligotipos estuvieron presentes tanto en especies domésticas como silvestres. El tercero en frecuencia fue el SB0120, (7,8%) encontrándose casi exclusivamente en animales domésticos. Por otra parte, se identificaron nuevos espoligotipos no reportados hasta el momento en el mundo, cuya incorporación en la base de datos ya fue solicitada. De los 12 espoligotipos encontrados en especies silvestres, 8 (66,6%) son compartidos con especies domésticas y 4 (33,3%) sólo se encontraron en jabalíes. De los 40 espoligotipos diferentes que se hallaron en especies domésticas, el 30% fue compartido con especies silvestres y el 70% sólo estuvo presente en especies domésticas.

Discusión y conclusiones. Se observó que las especies domésticas y silvestres comparten espoligotipos, sugiriendo una transmisión activa de TBb entre estas. El mayor porcentaje de espoligotipos exclusivos dentro de los animales domésticos indicaría una mayor eficacia en la transmisión de TBb entre estas especies (bovinos, porcinos y búfalos principalmente) mientras que existieron patrones que sólo se observaron en especies silvestres (jabalí), sugiriendo una transmisión efectiva entre fauna silvestre sin la presencia de un hospedador doméstico. Se necesitarían más estudios de genotipificación abarcando un mayor número de animales para elaborar conclusiones más precisas. Si bien el jabalí se destaca como una especie silvestre con un rol epidemiológico de reservorio de la TBb, en nuestros ecosistemas, se requerirían análisis moleculares más profundos para establecer la direccionalidad de la transmisión hacia especies como el porcino y el bovino. El conocimiento de la circulación de cepas podrá contribuir a mejorar los diseños de los programas de control y erradicación de la TBb, y facilitar la vigilancia y mejor comprensión epidemiológica de la enfermedad en nuestro país.

Bibliografía

- Barandiarán, S., Martínez Vivot, M., Pérez, A.M., Cataldi, A. A., Zumárraga, M.J. (2015). Bovine tuberculosis in domestic pigs: Genotyping and distribution of isolates in Argentina. *Research in Veterinary Science*, 103, 44–50.
- Zumárraga, M.J., Arriaga, C., Barandiarán, S., Cobos-Marín, L., de Waard, J., Estrada-García, I., Figueiredo, T., Figueroa, A., Giménez, F., Gomes, H.M., Gonzalez-y-Merchand, J.A., Macías, A., Milián-Suazo, F., Rodríguez, C.A.R., Santillán, M.A., Suffys, P.N., Tragoni, M.D., Zárraga, A.M., & Cataldi, A. (2013). Understanding the relationship between *Mycobacterium bovis* spoligotypes from cattle in Latin American Countries. *Research in Veterinary Science*. 94(1)9-2
- Kamerbeek, J., L. Schouls, A. Kolk, M. Van Agterveld, D. Van Soolingen, S. Kuijper, A. Bunschoten et al. (1997). “Simultaneous Detection and Strain Differentiation of *Mycobacterium Tuberculosis* for Diagnosis and Epidemiology.” *Journal of Clinical Microbiology* 35 (4): 907–14. [https://doi.org/10.1016/S0305-4403\(02\)00239-X](https://doi.org/10.1016/S0305-4403(02)00239-X)

B5-ARTRITIS EN TERNERAS CAUSADAS POR MYCOPLASMA

Neder, VE¹; Ebinger, M²; Calvino, LF¹. ¹Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, EEA Rafaela, IdICa (INTA-CONICET).
²Profesión libre. calvino.luis@inta.gob.ar

Introducción. Los *Mycoplasma* son bacterias que carecen de pared celular, pertenecen a la clase *Mollicutes*, tienen genomas pequeños y presentan un bajo contenido de G+C. Estos organismos causan infecciones articulares, óticas, respiratorias, reproductivas y mamarias en bovinos (Maunsell et al., 2011). El diagnóstico de estas infecciones no se realiza en forma rutinaria en nuestro país, por lo que existe poca información acerca de su participación en cuadros de enfermedad. En los últimos años se ha incrementado la capacidad diagnóstica de estas infecciones en bovinos empleando tanto metodologías clásicas como moleculares o ambas, ampliando el conocimiento sobre las especies más frecuentemente aisladas y su asociación a diversos cuadros clínicos (Tamiozzo et al., 2014; Margineda et al., 2017; Neder et al., 2021). El objetivo de esta comunicación es describir tres casos de artritis en terneras en etapa de crianza artificial, así como la metodología de diagnóstico utilizada.

Materiales y métodos. Las terneras provenían de un establecimiento lechero ubicado en el partido de Lobos (Pcia. de Buenos Aires) con 630 vacas en ordeño, en las cuales se había diagnosticado previamente la presencia de *Mycoplasma* en leche de vacas con signos de mastitis clínicas. Tres terneras alimentadas con leche del tambo presentaron signos clínicos de artritis o poliartritis en las articulaciones carpales y tarsales. Además, una de ellas presentó signos de otitis. En los tres casos se tomaron muestras de líquido articular por punción. Las muestras fueron mantenidas refrigeradas hasta su llegada al laboratorio. Se realizó observación microscópica directa por coloración de Gram y siembra en agar Hayflick modificado incubándose a 37°C en atmósfera de CO₂ al 10% por 7 a 10 días. Además, las muestras se sembraron en agar sangre y agar McConkey. La extracción del ADN se realizó por calentamiento a 100°C por 10 minutos, centrifugación 2 min a 10.000 g recuperación del sobrenadante. El ADN extraído se utilizó como templado para la realización de una PCR genérica para identificación de *Mycoplasma* spp., amplificando un fragmento del gen 16-23 S rRNA. Para la identificación a nivel de especie de los aislamientos positivos, se realizaron dos multiplex PCR, una para detectar las especies *M. bovis* y *M. canadense* y otra para detectar las especies *M. californicum* y *M. leachii* descritas previamente (Neder et al., 2021). Los productos de amplificación fueron analizados por electroforesis en gel de agarosa al 1.5%

Resultados. Los tres animales presentaron tumefacción de las articulaciones del carpo y tarso con distintos grados de severidad y dificultad locomotora. En el caso más severo también se vieron implicadas ambas articulaciones fémoro tibio rotulianas. No se observaron formas bacterianas en el examen microscópico directo ni se obtuvo desarrollo en agar sangre y agar McConkey. Entre los 5 y 7 días de incubación se observó el desarrollo de colonias típicas de *Mycoplasma* en agar Hayflick modificado. A partir de dos muestras se pudo extraer ADN y por PCR genérica se determinó la presencia de *Mycoplasma* spp. A partir de las dos multiplex PCR en una

muestra se identificó *M. canadense* y en otra *M. bovis*. En todos los casos los animales recibieron tratamiento antibiótico. En un caso hubo respuesta pobre a la oxitetraciclina usada como primera opción y debió remplazarse por tulatromicina (también con pobres resultados). Los otros dos casos fueron tratados con lincomicina+espectinomicina y oxitetraciclina, respectivamente. En todos los casos se utilizaron las dosis recomendadas y el tratamiento se combinó con AINES. De las tres terneras, dos mostraron mejoría clínica, mientras que una tuvo recuperación transitoria, debiendo ser sacrificada a los 9 meses por marcada dificultad para desplazarse.

Discusión y conclusión. El uso del cultivo clásico permitió la identificación presuntiva de *Mycoplasma* spp., lo cual fue confirmado por PCR genérica. A través del uso de dos PCR multiplex se logró la identificación a nivel de especie de los aislamientos obtenidos. *Mycoplasma bovis* se considera actualmente la especie más frecuentemente asociada a enfermedades del ganado en todo el mundo, por lo que existe numerosa información sobre aspectos patogénicos y epidemiológicos (Maunsell et al., 2011). En Argentina se ha identificado en distintos cuadros en ganado lechero a partir de la década de 2000 (Tamiozzo et al. 2012; Margineda et al., 2017; Neder et al., 2021). *Mycoplasma canadense* es aislado con menor frecuencia y por lo tanto, los cuadros asociados a este organismo están menos caracterizados que los causados por *M. bovis*. En nuestro país ha sido aislado de leche de tanque (Tamiozzo et al., 2012) y de infección mamaria (Neder et al., 2021), ambos en provincia de Buenos Aires. Además se lo asocia con vulvovaginitis granulopapular en ganado lechero (Lysnyansky et al., 2009). Tanto la descripción del presente caso como la metodología diagnóstica empleada son de utilidad para ampliar el conocimiento sobre las infecciones por *Mycoplasma* en bovinos y ratifica la importancia de incluir su búsqueda en los diagnósticos de rutina en nuestro país.

Bibliografía

- Lysnyansky, I., Brenner, J., Alpert, N., Benjamin, A., Bernstein, M., Elad, D., Blum, S., Friedgut, O., Rotenberg, D. 2009. Identification of *Mycoplasma bovigenitalium* and *Mycoplasma canadense* from outbreaks of granulopapular vulvovaginitis in dairy cattle in Israel. Vet. Rec. 165:319-322.
- Margineda, C.A., Zielinski, G.O., Jurado, S., Ferrel, A., Mozgova, M., Alcaraz, A.C., López, A. 2017. *Mycoplasma bovis* pneumonia in feedlot cattle and dairy calves in Argentina. Braz. J. Vet. Pathol. 2017;10:79-86.
- Maunsell, F.P., Woolums, A.R., Francoz, D., Rosenbusch, R.F., Step, D.L., Wilson, D.J., Janzen, E.D. 2011. *Mycoplasma bovis* Infections in Cattle. J Vet Intern Med 25:772-783.
- Neder, V.E., Amadio, A.F., Calvino, L.F. 2021. Detection by multiplex PCR of *Mycoplasma* species associated with dairy cattle in Argentina. Rev. Arg. Microbiol. (En prensa).
- Tamiozzo, P.J.; Estangueta, A., Maito, J., Tirante, L., Pol, M., Giraudo, J. 2014. Detection of *Mycoplasma canadense* and *Mycoplasma californicum* in dairy cattle from Argentina. Rev. Arg. Microbiol.46:119-121.

B6-DETECCIÓN DE *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS* EN EL INTESTINO DE *APIS MELLIFERA* (HYMENOPTERA: APIDAE)

RB Marcellino^{1,2}, AL Pietrantuono^{2,3}, F Ghersa^{1,4}, V Fernández Arhex^{2,5}, G Huerta⁶, JS Pappalardo^{1,2}, AC Mignaquí^{1,2}

¹Grupo de Nanomedicina Veterinaria Área de Producción Animal INTA-EEA Bariloche, ²IFAB (INTA-CONICET), ³Grupo de Ecología de Poblaciones de Insectos Área Forestal INTA-EEA Bariloche, ⁴INIBIOMA (UNCo-CONICET), ⁵Grupo de Fauna Área de Recursos Naturales INTA-EEA Bariloche, ⁶Área de Desarrollo Rural INTA EEA Bariloche. mignaquí.anaclara@inta.gob.ar

Introducción. *Clostridium perfringens* es una bacteria anaerobia, Gram positiva, que puede aislarse del medio ambiente en muestras de agua y suelo, así como del intestino de animales sanos. Esta bacteria se caracteriza por producir una gran variedad de toxinas, seis de las cuales (alfa, beta, epsilon, iota, enterotoxina y NetB) permiten clasificar sus aislamientos en seis tipos bacterianos (A, B, C, D, E, F y G) (Rood *et al.* 2018). Si bien *C. perfringens* tipo A es el toxinotipo más frecuentemente aislado de muestras de agua, suelo y el tracto gastrointestinal de animales, es también el agente causal de una gran cantidad de enfermedades como la enteritis necrótica en pollos, enteritis en cerdos, enteritis hemorrágica en bovinos y gangrena, intoxicación alimentaria y enfermedad gastrointestinal en humanos. Si bien, *C. perfringens* no está considerada dentro del Código Terrestre de la Organización mundial de Sanidad Animal dentro de las plagas y enfermedades de las abejas, la presencia de la bacteria y sus toxinas en los productos derivados de la apicultura como la miel, el polen, la jalea real, y propóleos disminuye su calidad microbiológica afectando su seguridad (Grenda *et al.* 2017). La información disponible sobre la presencia de *C. perfringens* en muestras obtenidas a partir de abejas o en sus productos derivados como la miel es escasa. El objetivo del presente trabajo fue determinar la presencia de *C. perfringens* en el intestino de *Apis mellifera* en el norte de la Patagonia Argentina, mediante técnicas de biología molecular y bacteriología tradicional.

Materiales y métodos. Se recolectaron 60 abejas de distintas colmenas del apiario presente en la Estación Experimental Agropecuaria Bariloche de INTA. Se trasladaron al laboratorio y se sacrificaron por congelamiento a -20 °C. Se tomaron muestras de los intestinos en forma aséptica en una cabina de seguridad biológica. Las muestras se sembraron en caldo cerebro corazón y se incubaron a 37 °C por 24 h en jarras de anaerobiosis con una atmósfera de 95% H₂ y 5% CO₂. Se utilizaron 100 µl de caldo cerebro corazón para sembrar placas de agar sangre con neomicina (100 µg/mL). Las placas se incubaron en anaerobiosis por 24 h. Las colonias con doble halo de hemólisis compatibles con *C. perfringens* se identificaron mediante la tinción de Gram y las pruebas bioquímicas: lecitinasa, lipasa, catalasa, CAMP y aerotolerancia (Fig. 1).

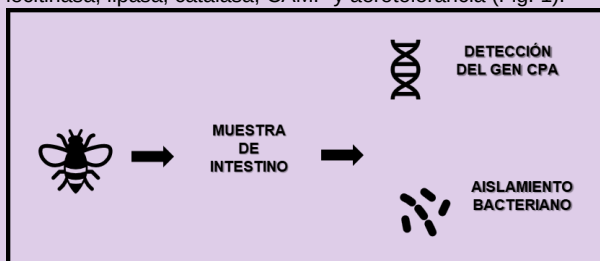


Figura 1: Esquema del procesamiento de las muestras.

Por otro lado, se realizó la extracción de ADN mezclando 20 µL de caldo cerebro corazón con 150 µL de la resina Chelex®, se incubó 20 min a 65 °C, 8 min a 100 °C, se centrifugó 2 min a 10.000 g y se recuperó el sobrenadante. El ADN extraído se utilizó como templado en una PCR utilizando cebadores previamente descritos del gen cpa, que codifica para la toxina alfa (Fig. 1). Se utilizaron las siguientes condiciones 10 mM dNTPs, 2mM MgCl₂, 2 × PCR buffer Taq Pegasus (PB-L, Argentina), 1.25 U DNA Taq Pegasus, 1 µL de ADN y agua hasta completar 25 µL. Las condiciones de ciclado fueron las siguientes: 25 ciclos a 95 °C por 1 min, 53 °C por 1 min 72 °C por 1 min y un paso adicional de 10 min a 72 °C.

Resultados. Se ha podido detectar por PCR la presencia del gen alfa de *C. perfringens* en 13 de las 60 muestras de intestino de abejas. Por medio de técnicas de bacteriología fue posible obtener aislamientos de la bacteria en 9 de las 13 muestras que fueron positivas por PCR (Fig. 2). Sumado a los aislamientos de *C. perfringens* pudieron aislarse 3 aislamientos de *Clostridium spp.*

N° DE MUESTRAS	MUESTRAS POSITIVAS POR PCR	AISLAMIENTOS POR BACTERIOLOGÍA
60	13	9

Figura 2: Presencia de *Clostridium perfringens* detectada por PCR y bacteriología.

Discusión y conclusión. Fue posible detectar la presencia de *C. perfringens* en un 21,6% de las muestras y recuperarla por aislamiento en un 15%. Conocer y caracterizar la presencia de bacterias anaerobias en las producciones apícolas es un aporte para avanzar en mejoras en la calidad microbiológica de los productos terminados favoreciendo el crecimiento de esta industria para satisfacer las demandas del mercado interno y externo, ya que el 95% de la producción se destina a exportación.

Bibliografía

-Rood *et al.* 2018. Expansion of the *Clostridium perfringens* toxin-based typing scheme. *Anaerobe* 53 5-10.
 -Grenda *et al.* 2017. Prevalence of *C. botulinum* and *C. perfringens* spores in food products available on Polish market. *J. Vet. Res.* 61, 287-291. DOI:10.1515/jvetres-2017-0038.

B7-COMPARACIÓN DE TÉCNICAS SEROLÓGICAS CONVENCIONALES PARA LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ANTI-BRUCELLA EN *ZAEDYUS PICHII*

Matias Arregui^{1,2}, Mariella Superina³, Luis Samartino^{1,2}

¹ Instituto de Patobiología, CICVyA, INTA, Buenos Aires, Argentina; ² Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias, Universidad del Salvador, Buenos Aires, Argentina; IMBECU, CCT CONICET Mendoza, Universidad de Cuyo, Mendoza, Argentina. arregui.matias@inta.gob.ar

Introducción. A nivel mundial, el género *Brucella* se encuentra en constante expansión. La detección y caracterización de nuevas especies de esta bacteria en animales silvestres sugiere incrementar el relevamiento de la circulación de *Brucella* spp. En nuestro país, el rol de la fauna silvestre no se encuentra completamente establecido. En este caso en particular, la presencia de anticuerpos en animales pertenecientes a la fauna autóctona podría marcar una mayor comprensión de la cadena epidemiológica de infecciones por *Brucella*. Hasta el momento no existe evidencia de la presencia de especies de *Brucella* adaptadas a los armadillos. Actualmente hay información detallada sobre el desempeño de las técnicas serológicas convencionales para el diagnóstico de brucelosis en animales de producción, pero dicha información es inexistente o insuficiente al momento de trabajar con especies no tradicionales. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el desempeño de dos técnicas serológicas ampliamente utilizadas: Ensayo de Polarización Fluorescente (FPA) y Fijación de Complemento (FC) para la detección de anticuerpos anti-*Brucella* en sueros de Pichis/Piches (*Zaedyus pichii*).

Materiales y métodos. Se analizaron un total de 216 sueros de *Z. pichii*. Los mismos fueron conservados por congelación a -20°C. Las muestras fueron procesadas mediante FPA y FC. Para la ejecución de FPA se utilizó un analizador de luz polarizada SENTRY 100 (Diacemix ®) y el kit diagnóstico elaborado por BIOTANDIL ® con el polisacárido de la cadena "O" de *Brucella abortus* 1119-3. El punto de corte utilizado fue de 85 mP y se trabajó el suero a una dilución 1/25. En el caso de FC, la técnica se realizó en microplacas de polipropileno de 96 pocillos, fondo en U con capacidad para 250 µl. La prueba se realizó a un volumen final de 100 µl. Como antígeno se utilizó *Brucella abortus* 1119-3 en fase lisa inactivada por calor. Los lineamientos generales de ambas técnicas siguieron las sugerencias del Manual de Diagnóstico Serológico de SENASA 2019. En los casos donde se observó poder anticomplementario (PAC) se realizó un segundo ciclo de inactivación (primer ciclo 58 ± 2 °C durante 30 minutos y segundo ciclo a 60 - 63 °C durante 30 minutos). Se tomó como punto de corte 20 UICF. El punto de corte de FPA fue ajustado a partir de otras especies (Arregui et al., datos no publicados). En el caso de FC, el punto fue establecido en la primera dilución donde se observó ausencia total de hemólisis (1/4).

Resultados. Del total de sueros procesados, 12 muestras arrojaron resultados dentro del punto de corte establecido para otras especies, clasificando a los mismos como positivos (Tabla 1). Dentro de los resultados obtenidos mediante FC, en un número importante de muestras (35/216) se observó poder anticomplementario (PAC) en los sueros, lo cual impidió la correcta lectura de los resultados. Luego de la segunda

inactivación no hubo cambios significativos en la lectura de los resultados.

Tabla 1: Resultados de FPA y FC en los sueros catalogados como positivos

Muestra	#21	#23	#35	#56	#101	#128	#156	#172	#193	#204	#211	#214
FPA (mP)	91	87	95	90	88	91	90	89	85	93	90	89
FC (UICF)	31	20	40	31	20	20	31	20	20	40	31	20

Discusión y conclusión. Luego de analizar los resultados a ambas pruebas, no existieron resultados contradictorios. Se observó una gran concordancia entre los puntos de corte de ambas pruebas. No existen datos suficientes como para realizar un ajuste en la interpretación de los resultados. Es necesario, para futuros trabajos, el procesamiento de tejidos para aislamientos bacterianos y de esa manera ajustar correctamente los puntos de corte de las diferentes técnicas. Todos los valores obtenidos fueron bajos, en comparación con los que se suelen obtener en el análisis de especies domésticas. Las dificultades encontradas al momento de la lectura de FC ponen en ventaja a FPA (ya ampliamente estudiada y descripta como multispecie). Las técnicas serológicas empleadas en el presente trabajo buscan detectar anticuerpos contra la cadena "O" del LPS de *Brucella* lisas y no existen evidencias de que exista circulación entre piches, tampoco de la presencia de alguna especie de *Brucella* particularmente adaptada a este tipo de fauna. Si bien previamente fueron detectados anticuerpos anti-*Brucella* en diferentes especies de armadillos, en este trabajo en particular en cambio se realizó una comparación entre los resultados arrojados por dos pruebas ampliamente descriptas. Es necesario realizar un mayor número de ensayos con el fin de establecer posibles correcciones en los puntos de corte o modificaciones en los protocolos, ya que se extrapolaron los procedimientos establecidos para especies domésticas.

Bibliografía

- SENASA. Brucelosis. Manual de Diagnóstico Serológico (*B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*). Buenos Aires, Argentina: Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria; 2019.
- Kin, M., Fort, M., Echaide, S., Casanave, E., *Brucella suis* in armadillos (*Chaetophractus villosus*) from La Pampa, Argentina, Veterinary Microbiology, Volume 170, Issues 3–4, 2014.
- Kin, M., Fort, M., Casanave, E., Inoculación experimental de *Brucella Suis* biotipo 1 en *Chaetophractus villosus*. XXI Reunión Científica Técnica Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorio de Diagnóstico, 2016.

B8-TUBERCULOSIS EN CABRAS: COMPARACIÓN DE TRES SECUENCIAS BLANCO DE PCR PARA LA DETECCIÓN DE *MYCOBACTERIUM BOVIS* EN LECHE

R.V. Rocha¹, A.F. Macías², G.G. Magnano², E.E. Sticoti², M.N. Macio², M.O. Schneider², C.J. Garro³ F. Bigi¹, M.J. Zumárraga¹

1- Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular, INTA-CONICET, Hurlingham, Buenos Aires, Argentina. 2- Departamento de Patología Animal, Facultad de Agronomía y Veterinaria, UNRC, Río Cuarto, Córdoba, Argentina.

3-Instituto de Patobiología Veterinaria, INTA-CONICET, Hurlingham, Buenos Aires, Argentina. rocha.rosana@inta.gob.ar

Introducción. *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*) es el agente causal de la tuberculosis bovina (TBB), enfermedad zoonótica que afecta a distintos hospedadores. La infección por *M. bovis* en el ganado caprino es menos frecuente que en el bovino, siendo su prevalencia variable según el año y la región en estudio (0,67-7,3%). En el año 2015, se demostró la existencia de lesiones compatibles con tuberculosis (LCT) en 51 cabras provenientes de 8 hatos de pequeños productores que habían resultado positivas a la prueba tuberculínica (Magnano *et al.*, 2015). Las técnicas moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), permiten identificar la presencia de micobacterias del complejo *Mycobacterium tuberculosis* (CMT) como *M. bovis* y *Mycobacterium caprae* en distintos tipos de muestra incluyendo la leche. El objetivo de este trabajo fue detectar especies del CMT, a partir de muestras de leche de cabra, mediante PCR de punto final comparando diferentes secuencias blanco.

Materiales y métodos. Se estudiaron muestras de leche de 24 cabras reaccionantes a la prueba tuberculínica. Esas cabras habían sido faenadas, cultivados sus órganos y leche. Los 17 aislamientos obtenidos de tejidos fueron tipificados por *spoligotyping* (Magnano, 2015). Además, se procesaron 32 muestras de leche de animales libres de TBB. Un volumen de 500 µL de leche fue procesado mediante digestión enzimática con proteinasa K y posterior extracción con solventes orgánicos (fenol / cloroformo / alcohol isoamílico) precipitando el ADN total con isopropanol en medio salino (Zumárraga *et al.*, 2012). El ADN extraído se cuantificó por espectrofotometría (Nanodrop) y se evaluó su calidad según la relación A260/A280. Se emplearon 2 µL de ADN como templado en la reacción de PCR, con el fin de amplificar un fragmento de 448 pb de la secuencia Rv2807, 245 pb de la secuencia IS6110 presente en los miembros del CMT y la secuencia TbD1 de 51 pb presente en *M. bovis*, *M. africanum* y en cepas ancestrales de *M. tuberculosis* (Araújo *et al.*, 2014). Los productos de amplificación se separaron por electroforesis en geles de agarosa, al 2% para IS6110 y Rv2807 y al 3% para TbD1, se tiñeron con bromuro de etidio y se visualizaron por exposición a un transiluminador de luz UV, estimando el tamaño del fragmento amplificado por comparación con marcadores de peso molecular (100bp y 50bp DNA Ladder, Promega). Se calculó el Valor Predictivo Positivo (VPP) y Negativo (VPN) y concordancia (Índice kappa, κ) de la prueba considerando al cultivo de tejidos como el estándar de oro del diagnóstico de la enfermedad.

Resultados. De un total de 24 muestras analizadas, 11 (45,8%), resultaron positivas tanto por PCR-IS6110 como PCR-Rv2807, mientras que las 13 (54,2%) restantes resultaron negativas. Por PCR-TbD1 19 muestras (79,17%) resultaron positivas, mientras que los 5 restantes (20,83 %) fueron negativas. Los cultivos de las leches resultaron negativos en todos los casos, sin embargo, en 14 de las 19 muestras que tuvieron PCR positiva, se confirmó la presencia de *M. bovis* por

cultivo de los órganos y por *spoligotyping*. En todos los casos se obtuvo el espoligotipo SB0140, el más frecuente de las muestras analizadas de Argentina. Todas las muestras de leche de animales libres de tuberculosis tuvieron PCR negativas con las tres secuencias blanco.

	IS6110/Rv2807	TbD1
VPP	54,5	73,7
VPN	82,2	100
SENSIBILIDAD	42,9	100
ESPECIFICIDAD	88,1	88,1
INDICE κ	0,33 (concordancia débil)	0,78 (concordancia adecuada)

Tabla 1: Resultados de las PCRs en muestras de leche caprina con las secuencias blanco IS6110, Rv2807 y TbD1. Se indica el VPP, VPN, sensibilidad, especificidad e índice κ (Win Epi; <http://www.winepi.net/>) (IC95%).

Discusión y conclusión. En este trabajo se confirmó que la leche caprina constituye una buena matriz para la extracción de ADN de calidad para ser utilizado como templado de la PCR. La PCR-TbD1 fue la más sensible para la detección de *M. bovis* en leche, habiéndose confirmado por cultivo de tejidos el 73,6% de las muestras con PCR-TbD1 positiva (14/19). Un estudio previo realizado por Zumárraga y col. (2012) en bovinos lecheros permitió identificar rodeos infectados en tambos con certificación de libre de TBB, mediante el análisis de la leche del tanque. Considerando este antecedente, podemos concluir que el método utilizado para la detección de *M. bovis* en leche caprina es una estrategia valiosa y podría utilizarse complementariamente a las técnicas oficiales de diagnóstico. La PCR-TbD1 constituiría una nueva herramienta para la detección de *M. bovis* en esa matriz, alimento que por sus características nutricionales cobra cada vez más importancia en el país y en el mundo.

Bibliografía

- Araújo, C.P. y col. PLoS One. 2014 11; 9 (3): e91023.
- Hermans, P.W. y col 1990. J. Clin. Microbiol., 28: 2051-2058.
- Magnano, G.G. Evaluación de técnicas diagnósticas en tuberculosis caprina de áreas con alta y baja prevalencia de la región central de la República Argentina. UNRC, 2015.
- Zumárraga, M.J. y col. Foodborne Pathogens and Disease. 2012; 9 (2):132-7.

B9-RESULTADOS DEL CONTROL MICROBIOLÓGICO DE SEMEN BOVINO CRIOPRESERVADO

M Catena ¹, ML Chiapparrone ¹, CI Cagnoli ¹, CS Cacciato ^{1,2}, J Cantón ¹, P Soto ¹, J Cabodevila ³

1. Laboratorio de Microbiología Clínica y Experimental, Departamento de Sanidad Animal y Medicina Preventiva, Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN), Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNCPBA), Tandil, Buenos Aires, Argentina. 2. Comisión de Investigaciones Científicas (CIC) (CIVETAN-FCV-UNCPBA), Tandil, Buenos Aires, Argentina. 3. Laboratorio de Reproducción, Departamento de Fisiopatología (CIVETAN-FCV-UNCPBA), Tandil, Buenos Aires, Argentina. mcatena@vet.unicen.edu.ar

Introducción. La criopreservación de semen bovino es una importante biotecnología reproductiva, que busca promover la conservación del germoplasma masculino. Cuando se asocia a la inseminación artificial (IA), representa un mecanismo eficiente para la promoción y difusión de material genético. Pero también a través de ellas, se pueden vehicular microorganismos patógenos u oportunistas para los animales y para la Salud Pública, algunos son agentes zoonóticos. Los centros de IA deben seguir las recomendaciones formuladas por el Código Zoonosario Internacional de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE). En nuestro país, el SENASA por resolución N° 899/99 aprueba los "Requisitos Sanitarios Generales para la importación de Semen Bovino criopreservado hacia la República Argentina". De acuerdo a la OIE, el control sanitario en la producción de semen criopreservado y su distribución internacional, debe mantener la sanidad de los animales dentro de un centro de IA, evitando la transmisión de microorganismos a otros animales y/o a las personas, quedando implícito el concepto de Una Salud. En este contexto, los profesionales que intervienen deben asegurar que el semen sea extraído, diluido, congelado y almacenado higiénicamente a -196 °C, ya que muchos microorganismos son capaces de sobrevivir a los antibióticos y al proceso de criopreservación y descriptopreservación del semen. Es importante remarcar que de un eyaculado se obtienen numerosas dosis de semen, por ello el riesgo de diseminación de enfermedades en diferentes rodeos es elevado. Las posibilidades de infectar a una hembra durante la IA aumentan, debido a que el semen es depositado en el útero, evitando los efectos bactericidas de las secreciones vaginales y del cuello uterino. La evaluación microbiológica del semen, constituye un excelente mecanismo de control, ya que permite establecer el estado sanitario de los sementales dentro de los centros de IA y fuera, en la comercialización del semen. En este trabajo se incluyen los resultados del control microbiológico (CM) de semen bovino criopreservado realizado en la Facultad de Ciencias Veterinarias (UNCPBA) en el período 2013-2020, como continuación del trabajo presentado en la reunión Científico Técnica del año 2014.

Materiales y métodos. En el servicio de evaluación de semen criopreservado durante el período 2013-2020 se analizaron 937 partidas, provenientes de 35 Centros de IA: 408 (43,5%) provenientes de reproductores de razas lecheras y 529 (56,5%) de reproductores de carne. De acuerdo al origen, las pajuelas de semen de razas lecheras fueron mayoritariamente importadas (90,7%) y en las de carne, el mayor porcentaje fue nacional (77%). De cada partida, se procesaron tres pajuelas y se evaluaron los siguientes parámetros: viabilidad pos descongelación, morfología espermática, número de espermatozoides con motilidad progresiva por dosis y el CM. Las pajuelas procesadas fueron de origen nacional e importado: USA, Canadá, Nueva Zelanda, Australia, Francia, Suecia Dinamarca, Brasil y Uruguay, y remitidas al laboratorio proveniente de distribuidores de semen nacional e importado, cooperativas de IA y veterinarios de la actividad privada. El CM se realizó siguiendo el protocolo de rutina de acuerdo a los microorganismos buscados: patógenos oportunistas como *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, *Acinetobacter* spp., *Actinomyces* spp., *Proteus* spp., *Corynebacterium* spp., hongos y levaduras y patógenos de la reproducción, *Brucella abortus*, *Campylobacter fetus*, *Listeria monocytogenes*, *Leptospira interrogans*, *Histophilus somni*, *Tritrichomonas foetus*, *Mycoplasma bovis*, *Chlamydia* spp., *Trueperella pyogenes*. De cada partida de semen criopreservado se realizaron tres

diluciones seriadas a partir de 1/20, para la determinación de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) en agar triptoso (Britania B0210206). Para el aislamiento de los patógenos, la dilución inicial se sembró en: agar triptoso suplementado con sangre bovina y caldos *Brucella* (DIFCO/BD 211088), tioglicolato (Britania B0214406) e infusión cerebro-corazón (Britania B0214606). Las placas para UFC se incubaron en aerofilia a 37 °C durante 48 h. Las placas para aislamiento de los patógenos, en aerofilia y microaerofilia a 37 °C hasta 10 días. Los microorganismos aislados se identificaron por pruebas bioquímicas tradicionales. Para la búsqueda de *Campylobacter fetus* y *Brucella abortus* se sembró en medio Skirrow con una incubación en microaerofilia a 37 °C de hasta 10 y 20 días, respectivamente. Para el aislamiento de *Tritrichomonas foetus* se sembró en medio TYM y se incubó en aerofilia a 37 °C durante 7 días. Las consideraciones para determinar si una pajuela es apta o no para IA se basan en las Normas ISO 9002 que exigen que el semen esté libre de patógenos de la reproducción y hasta 500 UFC para microorganismos oportunistas por unidad de inseminación. La OIE clasifica el semen en calidad bacteriológica media entre 500 y 5000 UFC y baja $\geq$ 5000 UFC.

Resultados. Del total de partidas analizadas, 276 (29,45%) se consideraron como no aptas. Los conteos entre 500 y 5000 UFC/DI registrados fueron: 173 (62,7%), 47 (27,2%) partidas de leche y 126 (72,8%) carne. Mayores a 5000 UFC/DI, 103 (37,3%), 12 (11,7%) leche y 91 (88,3%) carne. En cuanto a la procedencia de las pajuelas no aptas, el mayor número fue para semen nacional 197 (71,4%) y para carne 186 (94,4%). En el semen importado 79 (28,6%) el mayor número fue leche 48 (60,7%) y 31 (39,3%) carne. El 88% de las partidas no aptas presentaron cultivos polimicrobianos. Los principales hallazgos son *Acinetobacter calcoaceticus*, *Staphylococcus aureus*, *Comomonas testosteroni*, *Moraxella iwofii*, *Streptococcus uberis*, *Candida* spp., *Aspergillus* spp. Algunos de los patógenos aislados podrían estar relacionados con fallas reproductivas, como *Candida* spp., *Aspergillus* spp. y *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium bovis*, principalmente presentes en pajuelas de carne nacional.

Discusión y conclusiones. El 30% del semen comercializado fue considerado no apto por microbiología. Varios de los patógenos aislados son comunes al hombre y a los animales. En el semen algunos microorganismos pueden encontrar las condiciones óptimas para sobrevivir, ocasionar daños a los espermatozoides y desencadenar procesos de infertilidad o infecciones del tracto reproductivo de la hembra bovina. Si bien se recomienda la IA como método de prevención de enfermedades de transmisión sexual, es importante el análisis del semen a utilizar, ya que puede convertirse en una fuente de infección y diseminación de patógenos.

Bibliografía

- Cabodevila, J., Catena, M., Catalano, R., Echeverría, H., Callejas, S., Soto, P. Monteavaro, C. 2005. Evaluación de semen bovino criopreservado/descriptopreservado: Resultados de análisis realizados en el período 2003-2004. 12° Simposio Internacional de la Asociación Mundial de Laboratorios de Diagnóstico Veterinario, Uruguay.
- Catena, M., Cabodevila, J. 1999. Evaluación de Semen Bovino Criopreservado. *Taurus* 3:18-31.
- Catena, M., Cabodevila, J., Cagnoli, C., Echeverría, H., Chiapparrone, M.L., Cacciato, C., Cantón, J., Soto, P. Resultados del control microbiológico de semen bovino congelado. XX Reunión Científico Técnica de la AAVLD. ISBN 978-950-554-903-0. Tucumán. 27 al 29 de Noviembre 2014.

B10-MICOPLASMAS HEMOTRÓPICOS FELINOS EN EL ÁREA METROPOLITANA DE BUENOS AIRES

M. V. Vazquez^{1,2} & D. F. Eiras^{1,2}

¹Departamento de Epizootiología y Salud Pública, FCV, UNLP, Buenos Aires, Argentina. ²Laboratorio DIAP (Diagnóstico en Animales Pequeños), Banfield, Buenos Aires, Argentina. victoriavazquez125@gmail.com

Introducción. Los micoplasmas hemotrópicos o hemoplasmas son bacterias pleomórficas Gram negativas que carecen de pared celular. Afectan de manera obligada los glóbulos rojos y pueden provocar anemia hemolítica en una gran variedad de mamíferos. Pertenecen a la clase Mollicutes, orden Mycoplasmatales, familia Mycoplasmataceae y el género *Mycoplasma*. En 1942, en un caso de anemia felina se lo describe por primera vez como *Eperythrozoon felis*. En 1953, Flint y Moss describieron este microorganismo en gatos anémicos de EE. UU., nombrando a la enfermedad Anemia Infecciosa Felina. Flint y Mc Kelvie en 1955 sugirieron la denominación *Haemobartonella felis*, nombre que fue aceptado en 1984. Se describieron dos formas: la variante pequeña, que fue designada "Cepa California" de *H. felis* y la variante grande designada como "Cepa Ohio" de *H. felis*. En 1997, los estudios de las secuencias del gen 16S del ARNr concluyeron que *Haemobartonella* spp. no pertenecía a la familia Anaplasmataceae, que no se encontraba en el orden Rickettsiales y que sus parientes más cercanos eran las especies del género *Mycoplasma*. Se propuso que la clasificación taxonómica debía ser modificada a fin de reconocer la verdadera filogenia y en los años subsiguientes el género *Haemobartonella* fue reclasificado dentro del género *Mycoplasma* como parte del clúster o grupo de micoplasmas hemotrópicos a los que también se los comenzó a denominar informalmente "hemoplasmas". Se determinó que la Cepa Ohio de *H. felis* o variante grande sería ahora llamada *Mycoplasma haemofelis* y que la variante pequeña o Cepa California de *H. felis* se llamaría *Candidatus Mycoplasma haemominutum*. Años más tarde, se describe en un gato de Zúrich (Suiza) una tercera especie, *Candidatus Mycoplasma turicensis* (de *Turicum*, Zúrich en latín). El término *Candidatus* fue el asignado por el Comité Internacional de Bacteriología Sistemática como categoría para los nuevos procariotas caracterizados mediante secuenciación, pero que presentan dificultades para cultivarse y por lo tanto solo pueden describirse en términos limitados. La enfermedad producida por estos microorganismos varía desde la ausencia de signos clínicos hasta anemia hemolítica aguda con presencia de palidez de las mucosas, depresión, letargia, pérdida de peso, anorexia, deshidratación, hipertermia intermitente, esplenomegalia y, menos frecuentemente, ictericia. La presentación clínica depende de la patogenicidad de la especie de hemoplasma, de la etapa de la infección, de los factores propios del huésped y de la presencia de enfermedades concurrentes. *Mycoplasma haemofelis* es considerada la especie más patógena, pudiendo producir enfermedad en gatos inmunocompetentes, con anemia moderada a grave en la etapa aguda. La etapa crónica usualmente se presenta sin anemia significativa, pero es posible la reactivación. *Candidatus M. haemominutum* y *Candidatus M. turicensis* no suelen producir anemia a menos que el paciente se encuentre inmunocomprometido, sin embargo, en algunos estudios se reconoce a *Candidatus M. haemominutum* como causa primaria de anemia moderada. La forma de transmisión de estos hemoplasmas no ha sido confirmada hasta el momento. Se ha sugerido la transmisión por ectoparásitos hematófagos, peleas entre gatos, transfusiones sanguíneas y prenatal/neonatal de la madre a sus cachorros. En Argentina, las descripciones sobre micoplasmas hemotrópicos en gatos domésticos son escasas y poco concluyentes. El objetivo del presente trabajo fue detectar mediante técnicas moleculares las especies de hemoplasmas felinos presentes en la zona sur del Área Metropolitana de Buenos Aires (AMBA).

Materiales y métodos. Se evaluaron 50 muestras de sangre provenientes de pacientes felinos del AMBA remitidas al Laboratorio DIAP por profesionales de la zona para diagnóstico molecular de micoplasmas hemotrópicos entre febrero y junio de 2021. La extracción del ADN se realizó a partir de sangre

entera con un sistema comercial de columnas. Se procedió con dos protocolos, uno de PCR convencional para la amplificación del gen 16S del ARNr de *Mycoplasma* spp., y un segundo protocolo de PCR *multiplex* para la detección del gen 16S del ARNr de *M. haemofelis*, *Candidatus M. haemominutum* y *Candidatus M. turicensis*. El producto de amplificación se reveló por electroforesis en gel de agarosa al 1,8% con ECO-Gel y se visualizó con transiluminador de luz azul. Se realizó la purificación del ADN y se remitió al UGB (INTA- Castelar) para secuenciación los productos de amplificación de la PCR *multiplex* de 2 muestras: una positiva a *M. haemofelis* y otra positiva a *Candidatus M. haemominutum* y *Candidatus M. turicensis*.

Resultados. De las 50 muestras analizadas, 14 (28%) resultaron positivas a ambas técnicas moleculares, obteniéndose para *Mycoplasma* spp. un producto de alrededor de 600 pares de bases (pb). Mediante la técnica de PCR *multiplex*, 5 (10%) fueron positivas a *Mycoplasma haemofelis* con un producto de 190 pb, 8 (16%) a *Candidatus M. haemominutum* con un producto de 241 pb y 2 (4%) a *Candidatus M. turicensis* con un producto de 359 pb. Los resultados de la secuenciación fueron alineados en el software Geneious, obteniéndose las tres secuencias consenso de cada especie. Estas secuencias mostraron 100% de identidad mediante BLAST con las secuencias de referencia de *M. haemofelis* (MN240855.1), *Candidatus M. haemominutum* (MN240867.1) y *Candidatus M. turicensis* (MK632342.1) disponibles en el GenBank.

Discusión. La información obtenida demuestra que las tres especies de hemoplasmas felinos se encuentran presentes en los gatos domésticos de la zona de estudio. Históricamente, el diagnóstico se realiza mediante la observación microscópica de los microorganismos epicelulares en la superficie de los eritrocitos de extendidos sanguíneos coloreados. Sin embargo, esta técnica tiene escasa sensibilidad y especificidad, pudiendo detectarse menos del 50% de los gatos infectados y siendo posible los falsos positivos debido a mala preparación de los extendidos, presencia de precipitados de colorante, artefactos de secado o cuerpos de Howell-Jolly. Adicionalmente, la microscopía óptica no permite la diferenciación entre especies y *Candidatus M. turicensis* no es visible con la utilización de esta técnica.

Conclusión. Resulta de importancia el entrenamiento de los profesionales veterinarios en la confección de extendidos de sangre capilar a fin de obtener mayor precisión en el diagnóstico microscópico. Es recomendable en la mayoría de los casos, la complementación de la microscopía con los hallazgos hematológicos y las técnicas de PCR disponibles para el diagnóstico correcto y el tratamiento acertado de la hemoplasmosis felina.

Bibliografía

- Barker, E.N. (2019). Update on Feline Hemoplasmosis. Vet Clin North Am - Small Anim Pract. 49:733-43.
- Criado-Fornelio, A. et al. (2003). Presence of *Mycoplasma haemofelis*, *Mycoplasma haemominutum* and piroplasmids in cats from southern Europe: A molecular study. Vet Microbiol. 93:307-17.
- Suksai, P. et al. (2010). Development of multiplex polymerase chain reaction for detection of feline hemotropic mycoplasma in blood and tissue specimens. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 41:1447-53.
- Tasker, S. (2010). Haemotropic mycoplasmas. What's their real significance in cats? J Feline Med Surg. 12:369-81.
- Willi, B. et al. (2007). From *Haemobartonella* to hemoplasma: Molecular methods provide new insights. Vet Microbiol. 125:197-209.

B11-ESTUDIO RETROSPECTIVO DE LEPTOSPIROSIS CANINA

¹Martin PL, ¹Mazzoni S, ¹Stanchi NO, ¹Pintos, ME, ²Perotti C, ¹Arauz MS.

¹Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata ²Laboratorio CIBEV, Córdoba. mpaulalorena@mail.com

Introducción. La leptospirosis es una zoonosis emergente de distribución mundial producida por bacterias del género *Leptospira*. La enfermedad en caninos se puede presentar desde una forma leve hasta un cuadro grave que compromete la vida de los animales afectados. Asimismo, las mascotas afectadas constituyen una fuente de infección para sus propietarios dado que eliminan el microorganismo con la orina por periodos variables. La vigilancia de la leptospirosis canina es importante dado que compone una de las estrategias de control de la misma permitiendo conocer cambios en la epidemiología en diferentes zonas. En Argentina, la seroprevalencia a partir de muestras de caninos con sospecha de la enfermedad varía entre 33 al 52,3 % para el Área Metropolitana de Buenos Aires (AMBA) y para otras regiones de la provincia de Buenos Aires no pertenecientes al AMBA (Tealdo y col., 2007; Molina y Scialfa, 2018). Mientras que, en muestras provenientes de animales sin sintomatología se han publicado datos del AMBA y de la ciudad de Córdoba con valores de 26,1 y 82,35 % respectivamente (Martin y col., 2014; Rollán y col., 2018). Los objetivos del presente trabajo fueron determinar la seroprevalencia a *Leptospira* spp., en sueros caninos; describir las serovariedades de más frecuente presentación; y evaluar si existen diferencias en la seroprevalencia según la procedencia de muestras.

Materiales y métodos. Se realizó un estudio descriptivo de corte transversal a partir de los resultados serológicos obtenidos de muestras de caninos con sospecha clínica de la enfermedad, remitidas al Servicio Central de Laboratorio de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata (SCL-FCV-UNLP) durante el período 2015-2020. Se incluyeron todos los resultados sin distinción de edad, sexo ni raza provenientes de las dos áreas metropolitanas en las que se ubican los laboratorios que derivan muestras al SCL-FCV-UNLP. Por lo cual, de acuerdo con su procedencia, se establecieron 2 grupos: aquellas provenientes del AMBA y aquellas derivadas de la zona de Gran Córdoba y Córdoba capital (GC-CC). El diagnóstico se realizó mediante la prueba de microaglutinación (MAT), de acuerdo con el método estándar, utilizando un panel de antígenos de seis cepas de *Leptospira*: *L. borgpetersenii* serovariedad Castellonis, *L. interrogans* serovariedad Canicola, *L. kirschneri* serovariedad Grippotyphosa, *L. interrogans* serovariedad Copenhageni, *L. interrogans* serovariedad Pomona y *L. interrogans* serovariedad Pyrogenes. Los sueros se analizaron inicialmente a una dilución de 1:100 y en caso de positividad se diluyeron hasta el título final. La prueba de chi-cuadrado fue utilizada para determinar diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la procedencia y la seropositividad en la prueba de MAT, y el valor de *Odss ratio* (OR) para estimar la asociación entre seropositividad y la procedencia de las muestras.

Resultados. Entre febrero de 2015 y marzo de 2020 se recibieron 1642 sueros de caninos, 1392 provenientes del AMBA y 250 de GC-CC. La seroprevalencia global fue de 36,3%, indicando que en la población se encuentra entre 33,97% y 38,62%. La serovariedad predominante fue Canicola (72,8%), seguida de Copenhageni (53%), Castellonis (36,7%), Pomona (17,1 %), Grippotyphosa (5,5%) y Pyrogenes (0,3%). Con relación a la seroprevalencia por regiones se observó un valor de 34,9% (32,48%-37,49%) para el AMBA y de 43,6 % (37,4-50,0) para la región de GC-CC. Las diferencias entre la procedencia y la seropositividad fueron estadísticamente significativas ($p < 0,05$). El OR fue de 1,43 indicando que aquellas muestras provenientes de GC-CC presentan

entre 1,09 y 1,89 más probabilidades de ser serorreactivas que las provenientes de AMBA

Discusión. La seroprevalencia global hallada es semejante al valor encontrado en estudios previos del AMBA del 33% en muestras provenientes de animales con sospecha de leptospirosis, no obstante, es menor a lo publicado por otros autores en regiones de la provincia de Buenos Aires no contempladas dentro del AMBA (Tealdo y col., 2007; Molina y Scialfa, 2018). Estas diferencias posiblemente se deban a los diferentes factores de riesgo a los que se exponen los caninos en áreas más rurales como en el resto de la provincia. En el análisis por cada región, la mayor seroprevalencia observada en el AMBA en contraposición con el 26,1% publicado para regiones concretas del AMBA como La Plata-Berisso-Ensenada (Martin y col., 2014), podría corresponder a que en nuestro estudio se incluyeron muestras de caninos con sospecha de la enfermedad y se contemplaron otras áreas del AMBA como las del conurbano bonaerense. Particularmente, la menor seroprevalencia encontrada en nuestro trabajo para la región de GC-CC en relación con lo publicado (Rollán y col., 2018) probablemente se origine en que este estudio se llevó a cabo en un área urbana más periférica. En estos casos, la cercanía a basurales, contacto con reservorios silvestres o con animales utilizados para tracción a sangre podrían incrementar la probabilidad de infección en comparación con caninos residentes en zonas metropolitanas. En relación con las serovariedades más frecuentes, nuestro trabajo coincide en lo que respecta a datos previos del AMBA (Martin y col., 2014). Sin embargo, difiere de otros publicados para esta misma zona y aquellos de la ciudad de Córdoba en donde las serovariedades más frecuentes fueron Cynopteri y Hardjo respectivamente (Tealdo y col., 2007; Rollán y col., 2018). De acuerdo con lo expuesto, es importante destacar que la seroprevalencia de la leptospirosis es variable de acuerdo a las condiciones en que residen los caninos, las que finalmente determinan los factores de riesgo a los que se exponen. Por lo tanto, sería conveniente en futuros estudios incluir el aislamiento o biología molecular para una mejor caracterización de las cepas circulantes y del estado de portador de los pacientes, como también, determinar posibles diferencias en estos factores de riesgo para desarrollar medidas preventivas acordes a la situación particular de cada región.

Bibliografía

- Martin, P.L., Molina, M.C., Stanchi, N.O., Corrada, Y., Cuelli, A., Cobos, M., Ozaeta, M.B., De Palma, V., Arauz, M.S. Prevalencia de leptospirosis en caninos de La Plata. Argentina. 2014. Resumen. XX Reunión científico-Técnica de la AAVLD.
- Molina, M.M. y Scialfa, E. Estudio retrospectivo de la leptospirosis animal. Departamento de zoonosis Rurales (2014-2017). 2018. Libro de resúmenes. II Congreso Internacional de Zoonosis, IX Congreso Argentino de Zoonosis, AAZ.
- Rollán, M.R., Irrazabal, M.G., Scialfa, E., Zurbriggen, G., Graiff, D., Giraud, F.J., Ruiz, S.E. Seroprevalencia de *Leptospira* spp. en caninos de la ciudad de Córdoba, Argentina. Rev. Salud Pública, 2018; 22(3), 68–76.
- Tealdo, M.S., Romero, G.N., Autrey, C.D., Samartino, L. Serología positiva a *Leptospira interrogans*, serovar cynopteri en caninos de la Ciudad de Buenos Aires, Argentina. In Vet. 2007; 9 (1): 59-65.

B12-PRESENCIA DE *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS* EN TRUCHA ARCOÍRIS *ONCORHYNCHUS MYKISS* DE CULTIVO EN PATAGONIA ANDINA

F Ghersa^{1,2}, RB Marcellino^{1,3}, EN Paredero¹, JS Pappalardo^{1,3}, AC Mignaqui^{1,3}, CA Rauque²

¹Grupo de Nanomedicina Veterinaria - INTA-EEA Bariloche, ²INIBIOMA (UNCo-CONICET), ³IFAB (INTA-CONICET).
mignaqui.anaclara@inta.gob.ar

Introducción. La acuicultura en Argentina se instauró en la década de 1970 con el cultivo de trucha arcoíris, siendo en la actualidad una actividad importante en Patagonia Norte. Como en toda producción animal, los peces también están expuestos a diferentes patógenos, algunos de los cuales causan pérdidas económicas importantes. En los últimos años la microbiota intestinal de peces ha comenzado a ser estudiada, aunque en comparación con los animales terrestres, se conoce muy poco de la misma y en este sentido la trucha arcoíris no es la excepción (Lyons *et al.*, 2016). *Clostridium perfringens* es una bacteria de distribución ubicua, presente en muchos ambientes, incluyendo el tracto gastrointestinal de animales y personas (Mignaqui *et al.*, 2017). Esta bacteria es capaz de causar enfermedades severas en animales de producción y en humanos. Según su capacidad para producir diferentes toxinas se clasifica en 7 distintos toxinotipos desde la A a la G (Freedman *et al.*, 2014, Rood *et al.*, 2018) (Tabla 1). El hallazgo de *C. perfringens* en animales de producción constituye una amenaza potencial, dado que cuando el animal sufre una situación de estrés o cambios bruscos en su dieta, esta bacteria prolifera liberando más cantidad de toxinas al medio intestinal causando enfermedades y por lo tanto pérdidas económicas. Los escasos estudios que se han realizado sobre la presencia de esta bacteria en peces encontraron que se halla en mayor cantidad en intestinos de peces de aguas contaminadas, siendo escaso el hallazgo de la misma en peces de aguas de mejor calidad (Matches *et al.*, 1974). La calidad del agua en la Patagonia es alta, siendo sus fuentes de origen glaciar y de vertientes naturales, produciendo arroyos limpios y fríos. Aunque las condiciones del agua son excelentes, ha habido un fuerte incremento de la población humana durante las últimas décadas, impactando negativamente sobre la calidad del agua. En el cultivo, los peces son manipulados intensamente durante la época de desove y su crecimiento es controlado mediante la alimentación, siendo ambos factores productores de altos niveles de estrés.

Toxina → Toxinotipo ↓	ALFA Gen: cpa o plc	BETA Gen: cpb	ÉPSILON Gen: etx	IOTA Gen: iap + ibp	ENTEROTOXINA Gen: cpe	NETB Gen: netB
A	+					
B	+	+	+			
C	+	+			+/-	
D	+		+		+/-	
E	+			+	+/-	
F	+				+	
G	+					+

Tabla 1. Producción de toxinas y toxinotipos de *Clostridium perfringens*.

El objetivo del presente trabajo fue determinar la presencia de *C. perfringens* en el intestino de truchas arcoíris del Centro Salmonicultura Bariloche mediante técnicas de biología molecular y bacteriología tradicional.

Materiales y métodos. Se tomaron muestras del intestino de truchas arcoíris (n=46) del Centro de Salmonicultura Bariloche dependiente de la Universidad Nacional del Comahue. Las muestras se procesaron inmediatamente en forma aséptica en

cabina de seguridad biológica. Las muestras se sembraron en caldo cerebro corazón y se incubaron a 37 °C por 24 h en jarras de anaerobiosis con una atmósfera de 95% H₂ y 5% CO₂. Se utilizaron 100 µl de caldo cerebro corazón para sembrar placas de agar sangre con neomicina (100 µg/mL). Las placas se incubaron en anaerobiosis nuevamente por 24 h. Las colonias con doble halo de hemólisis compatibles con *C. perfringens* se identificaron con la tinción de Gram y las pruebas bioquímicas: catalasa, lecitinasa, lipasa, CAMP y aerotolerancia. Por otro lado, se realizó la extracción de ADN mezclando 20 µL de caldo cerebro corazón con 150 µL de la resina Chelex, se incubó 20 min a 65 °C, 8 min a 100 °C, se centrifugó 2 min a 10.000 g y se recuperó el sobrenadante. El ADN extraído se utilizó como templado en una PCR utilizando cebadores previamente descriptos del gen cpa, cpb, ETX, cpe, cpb2 y iA, que codifican para las toxinas alfa, beta, épsilon, enterotoxina, beta2 e iota respectivamente. Se utilizaron las siguientes condiciones 10 mM dNTPs, 2mM MgCl₂, 2 × PCR buffer Taq Pegasus (PB-L, Argentina), 1,25 U DNA Taq Pegasus, 1 µL de ADN y agua hasta completar 25 µL. Las condiciones de ciclado fueron las siguientes: 25 ciclos a 95 °C por 1 min, 53 °C por 1 min 72 °C por 1 min y un paso adicional de 10 min a 72 °C.

Resultados. Por PCR se observaron 8,7% de las muestras positivas para el gen cpa (n=4), es decir que fueron positivas para *C. perfringens*, mientras que por bacteriología se aisló en tres muestras (6,5%), en todos los casos con menos de 5 UFC. No se detectaron otras toxinas por lo que todas las muestras obtenidas de *C. perfringens* son del toxinotipo A. Sumado *C. perfringens* se recuperó 1 aislamiento de *Clostridium spp.*

Conclusiones y discusión. *C. perfringens* es una bacteria de distribución ubicua que posee un riesgo potencial para la salud animal causando tanto pérdidas económicas en las producciones como pudiendo afectar la salud humana. La evaluación de esta bacteria complementa los análisis sanitarios que se pueden hacer en los establecimientos. En el presente trabajo, fue posible detectar la presencia de la bacteria por biología molecular y obtener aislamientos por bacteriología. Si bien el porcentaje de presencia de esta bacteria fue bajo, indicando una buena calidad del producto y buenas condiciones del agua, debe seguir evaluándose en otros muestreos ya que la información disponible es escasa. Este es el primer registro de *C. perfringens* en peces de cultivo de la Patagonia Argentina.

Bibliografía

- Lyons *et al.* (2016). Phylogenetic and functional characterization of the distal intestinal microbiome of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* from both farm and aquarium settings. J. Appl. Microbiol. 2017 Feb;122(2):347-363. doi: 10.1111/jam.13347. Epub 2016 Dec 6. PMID: 27860093.
- Mignaqui *et al.* (2016). Isolation and molecular characterization of *Clostridium perfringens* from healthy Merino lambs in Patagonia Region, Argentina. Anaerobe 43 (2017) 35-38.
- Freedman *et al.* (2014). *Clostridium perfringens* type A-E toxin plasmids. Institut Pasteur. Research in Microbiology 166 (2015) 264-279.
- Rood *et al.* (2018). Expansion of the *Clostridium perfringens* toxin-based typing scheme. Anaerobe 53 5-10.
- Matches *et al.* (1974). *Clostridium perfringens* in the environment. Applied Microbiology, Oct 1974, p 665-660.

B13-DETECCIÓN DE MICOPLASMAS HEMOTRÓFICOS EN GATOS DE CONSULTORIO

J.L. Cane^{1,3}, V.I. Cane^{2,3}, M.E. Picatto⁴, M.E. Nina⁴, N.B. Pereyra^{2,3}

¹ Cátedra de Parasitología Veterinaria y ² Cátedra de Microbiología de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Rosario; ³ Medax, Chañar Ladeado, Sta. Fe, ⁴ Actividad privada. * npereyra@medax.com.ar

Introducción. Los micoplasmas hemotróficos (MH) constituyen un grupo dentro del Género *Mycoplasma*, con afinidad por los glóbulos rojos (GR): se adhieren a su membrana y generan anemia hemolítica cuya gravedad depende en primer lugar de la especie de MH en cuestión. Los MH hasta ahora conocidos en gatos domésticos son: *Mycoplasma haemofelis* (*Mhf*) es el más patógeno, *Candidatus M. haemominutum* (CMhm) y *Candidatus M. turicensis* (CMt) y en general provocan cuadros de anemia si hay inmunosupresión previa. Los gatos infectados que sobreviven permanecen como portadores. La transmisión de los MH se produce a través de sangre infectada. La enfermedad incluye signos de anemia de gravedad variable². Pueden verse estructuras compatibles con MH (ECMH) en frotis sanguíneos coloreados, aunque la sensibilidad de esta técnica es baja. Por lo anterior, para el diagnóstico preciso debe recurrirse a métodos moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Una variante de PCR se realiza con el analizador de ácidos nucleicos POKKIT™ que utiliza la convección térmica natural para impulsar la reacción de PCR en el tubo R, colocado dentro de la cámara POKKIT™, que proporciona aislamiento y una única fuente de calor de 95°C que se aplica a la parte inferior del tubo: la solución (con sondas y elementos de la reacción) más caliente se aliviana y genera una corriente que sube, la solución más fría superior es más pesada y baja: se genera una corriente con gradiente térmico a lo largo del tubo produciéndose desnaturalización en la parte inferior, hibridación en la parte superior y alargamiento en el medio¹. El objetivo fue detectar MH en muestras de sangre de gatos que habían ingresado a consultorio por diferentes causas, entre ellas sintomatología compatible con la producida por MH.

Materiales y métodos. Se realizó la recepción de 38 muestras de sangre entera de gatos domésticos llegados a consultorios de profesionales de localidades del sur de Santa Fe y Sudeste de Córdoba. Veinte casos presentaban una clínica compatible con hemoplasmosis. Se realizaron hemogramas completos y frotis sanguíneos que se colorearon con May-Grünwald Giemsa para chequear la presencia de ECMH (excepto en tres muestras por la escasa cantidad). Se procedió a la extracción del ADN a partir de una alícuota de 200µl de sangre utilizando un kit comercial (PeNAD™) siguiendo las indicaciones del fabricante. Se realizó la técnica de PCR en cámara Pockit™ utilizando sondas comerciales (GeneReach Biotechnology Corp) para la detección de *Mhf*, de CMhm y de CMt, agregando sus respectivos controles positivos. Debido a que se disponía de un número diferente de sondas para cada MH, en 38 muestras se chequeó la presencia de *Mhf*, en 37 muestras se buscó CMhm y en 22 muestras CMt. Por lo tanto, en 22 muestras pudieron chequearse los tres MH, en 15 *Mhf* y CMhm y en una muestra solo *Mhf*.

Resultados

Hemograma. Dieciséis de las 35 muestras analizadas presentaron anemia. De los 17 gatos que resultaron positivos a alguna de las especies de MH, en 3 de ellos las muestras resultaron insuficientes para realizar los estudios hematológicos, 9 evidenciaron anemia en el hemograma: valores por debajo del rango normal tanto del hematocrito como del recuento de GR y de la concentración de hemoglobina.

Examen de frotis coloreados. Al realizar el frotis en dos de las muestras recibidas se observaron ECMH adheridas a los GR. En ambos casos se presentó anemia severa. En una de ellas la prueba de PCR resultó negativa en tres ocasiones para los 3 MH y no pudo volver a chequearse por muerte del paciente. En la muestra restante, el animal resultó coinfectado con *Mhf* y CMhm y también murió después de confirmarse el diagnóstico.

PCR. Diecisiete de los 38 gatos resultaron positivos a una o 2 especies de MH. *Mhf*: 7 de 38 (18,42%) resultaron positivos; CMhm: 13 de 37 (35,13%) resultaron positivos; CMt: 3 de 22 (13,63%) resultaron positivos.

Coinfecciones. En 6 muestras se detectaron coinfecciones. Cuatro animales resultaron positivos a *Mhf* y CMhm y dos a CMhm y CMt. Dos de los animales que resultaron coinfectados con más de una especie de MH no presentaron anemia.

Discusión y conclusiones

Se detectaron las 3 especies de MH con una prevalencia alta especialmente para CMhm, en un grupo reducido de animales que ingresaron a consultorio por diferentes motivos. Veinte gatos presentaban algún signo compatible con hemoplasmosis, pero solo 8 de ellos fueron positivos a PCR. Más de la mitad de los animales positivos a PCR presentaron valores hematológicos indicativos de anemia, aunque lo mismo se detectó en casi la mitad de los gatos negativos. Se observó una mayor prevalencia de CMhm en comparación con *Mhf* y CMt. En estudios realizados en todo el mundo CMhm ha sido el MH más comúnmente encontrado³. Esto podría sugerir que esta especie infecta y se multiplica de manera más eficiente que *Mhf* y CMt. Su mayor prevalencia en comparación con las otras dos especies podría deberse a su menor virulencia, lo que lleva a una convivencia próspera entre el animal y el microorganismo⁴. Seis de los gatos positivos presentaron coinfección con dos especies de MH. La coinfección con más de una especie de MH puede ser un factor que exacerbe su patogenidad, pero dos de estos animales con coinfección no presentaban anemia. Al realizar el examen de los frotis sanguíneos, únicamente se hallaron ECMH en 2 muestras y solo una de ellas fue positiva a PCR. Se sabe que el examen directo puede arrojar resultados falsos positivos y falsos negativos. Un factor a considerar en los resultados negativos es el tiempo pasado entre la recolección de la muestra y la realización de los frotis; en algunos casos la situación epidemiológica de Covid-19 impidió la rápida llegada de las muestras al laboratorio: el contacto prolongado con el anticoagulante utilizado (EDTA), podría favorecer el desprendimiento de los microorganismos de los GR. Lo anterior podría explicar los resultados del paciente con ECMH, valores hematológicos de anemia y resultados de PCR negativos a los 3 MH. También podría considerarse la presencia de una especie de MH diferente a las buscadas: se considera que los MH son específicos de especie, pero existen reportes de infecciones en especies animales no consideradas hospedadores primarios. Con respecto a la técnica PCR utilizada, se la considera con elevadas sensibilidad y especificidad. Hasta el momento, no existen en el país estudios de la prevalencia de estos MH, a partir de un muestreo estadístico diseñado especialmente, pero puede decirse que, de acuerdo a estos resultados, las tres especies de MH que afectan a los gatos están presentes en la región.

Bibliografía

1. GeneReach Biotechnology Corporation. POKKIT™ Nucleic Acid Analyzer System. https://www.genereach.com/index.php?func=faq&catalog_no=4
2. Harvey, J. (2008) Grenne, C. Enfermedades Infecciosas del Perro y el Gato. 3ª ed. Inter-Médica. Bs. As, Argentina. 31:282-91.
3. Sykes, J.; Drzenovich, N.; Ball, L.; Leutenegger M. (2007) Use of conventional and real-time polymerase chain reaction to determine the epidemiology of hemoplasma infections in anemic and nonanemic cats. 21(4):685-93. doi: 10.1892/0891-6640.
4. Tanahara, M.; Miyamoto, S.; Nishio T.; Yoshii Y.; Sakuma M.; Sakata, Y.; Nishigaki, K.; Tsujimoto H.; Setoguchi A. & Endo Y. (2010) An Epidemiological Survey of Feline Hemoplasma Infection in Japan. J. Vet. Med. Sci. 72(12): 1575–1581.

B14-COMPARACIÓN DE DOS MÉTODOS DE AISLAMIENTO PARA EL MONITOREO DE *SALMONELLA* SPP. EN AVES DE PRODUCCIÓN

Y.M. Cimino Marclay¹, J.N. Makaruk¹, M.A. Soria¹, y D.J. Bueno^{1,2*}

¹ Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria EEA Concepción del Uruguay, Ruta Provincial 39 Km 143,5, 3260, Concepción del Uruguay, Entre Ríos, Argentina. ² Facultad de Ciencia y Tecnología, Sede Basavilbaso, Universidad Autónoma de Entre Ríos, Barón Hirsch N° 175, 3170, Basavilbaso, Entre Ríos, Argentina. * bueno.dante@inta.gob.ar

Introducción. Las bacterias pertenecientes al género *Salmonella* ocasionan infecciones agudas y crónicas en las aves de producción, generando importantes pérdidas económicas. Los signos clínicos y las lesiones asociadas con la infección de esta bacteria en las aves se asemejan a las producidas por otras bacterias, por lo que el diagnóstico final depende del aislamiento e identificación de *Salmonella* spp. Por otra parte, dado que esta bacteria se transmite en las aves de manera vertical y horizontal, su monitoreo en pollitos BB es una herramienta fundamental en el control de las infecciones producidas por los distintos serotipos de *Salmonella* spp. (Gast y Porter, 2020). Por ello, el objetivo de este trabajo fue comparar dos métodos de cultivo en el monitoreo de *Salmonella* spp. en aves de producción intensiva y extensiva.

Materiales y métodos. Se analizaron un total de 1790 pollitos correspondiente a pollos parrilleros (1250), reproductores (520) y líneas INTA (20), que tenían entre 1 y 25 días de edad. Los mismos llegaron al laboratorio, en su mayor parte, vivos para el monitoreo de *Salmonella* spp. El estudio se realizó desde el 8 de mayo de 2019 al 16 de junio de 2021. Grupos de 10 pollitos BB pertenecientes al mismo lote fueron sacrificados por dislocación cervical. De cada uno de los pollitos del grupo se tomaron hígado y corazón; los órganos de 5 pollitos fueron sembrados por impresión de la cara interna de cada órgano en agar Mac Conkey (AMC) y luego colocados en un frasco estéril. Por otro lado, los mismos órganos de las aves restantes de cada grupo fueron colocados en el mismo frasco estéril. Se siguieron dos métodos de cultivo, uno para los órganos individuales y otro para los *pooles* de órganos sin triturar. Las placas sembradas en AMC fueron incubadas a 37 °C durante 18-24 h. Si durante ese período no había crecimiento bacteriano, se dejó incubando la placa a la misma temperatura durante 24 h más. Posteriormente, se tomaron 1 a 2 colonias bacterianas compatibles con *Salmonella* spp. y se le realizaron las pruebas bioquímicas para su confirmación. En caso de no haber colonias compatibles con *Salmonella* spp. igual se tomaron 1-2 colonias. Por otro lado, los *pooles* de órganos de cada grupo fueron incubados en agua peptona tamponada (APT) en relación 1/10 P/V durante 18-24 h a 37 °C. Posteriormente, se sembró en AMC, y se incubó durante 18-24 h a 37 °C. A su vez, se tomó 0,1 ml del caldo APT incubado y se lo colocó en un tubo con 10 ml de caldo Rappaport-Vassiliadis (RV) y se incubó a 41,5 °C durante 18-24 h. Las placas de AMC incubadas se siguieron como se detalló anteriormente. Por otro lado, el caldo RV incubado se sembró en agar xilosa lisina desoxicolato (AXLD) y agar *Salmonella Shigella* (ASS). Se tomaron una a dos colonias compatibles con *Salmonella* spp. y se realizaron las pruebas bioquímicas para su confirmación. En todos los casos, la tipificación se realizó siguiendo el esquema de Kauffmann-White-Le Minor. Se

calculó la tasa de aislamiento de cada metodología. A su vez, en base a los resultados de aislamiento de *Salmonella* spp., la concordancia (coeficiente Kappa) de los dos métodos utilizados fue calculada siguiendo el programa *Working in epidemiology* (de Blas, 2006) con un nivel de confianza del 95%.

Resultados. Siete muestras fueron positivas a *Salmonella* spp., 5 pertenecientes a *pool* de órganos (1 en agar AMC, 3 en AXLD y 4 en ASS), 1 a hígado y la restante a corazón. La tasa de aislamiento fue de 2,8% (5/179), 0,1% (1/895) y 0,1% (1/895) para los *pooles* de órganos, hígado y corazón, respectivamente. Las dos muestras de órganos individuales fueron positivas en el *pool* de órganos respectivo. Se tipificaron 2 serovares: *S. ser. Enteritidis* (correspondientes a 2 muestras de *pooles* de órganos) y *S. ser. Livingstone* (correspondiente a muestras de órganos y *pooles* de órganos). Por otro lado, la concordancia entre los 2 métodos de cultivo utilizados fue de 0,327.

Discusión y conclusiones. En estudios de monitoreo de la Unión Europea, se encontró que los serovares de *Salmonella* más frecuentemente aislados en reproductores y pollos parrilleros fueron *S. ser. Enteritidis* y *S. ser. Typhimurium* (EFSA and ECDC, 2019). Los tres serovares nombrados anteriormente pueden no dar signología clínica en las aves, pero son importantes como agentes zoonóticos (Gast y Porter, 2020). Por otro lado, Waltman (2000) indicó que el proceso de sembrar directamente órganos en las placas con medio de cultivo suele ser improductivo, salvo en el caso de infecciones agudas. En el caso del trabajo que se presenta, los animales estaban vivos en su mayor parte y llegaron al laboratorio para el monitoreo de *Salmonella* spp. por un diagnóstico preventivo. La baja carga de esta bacteria en este tipo de animales y la falta de signos clínicos podría explicar los resultados. Por todo lo expuesto anteriormente, el método de cultivo utilizado para *pooles* de órganos presenta una mayor tasa de aislamiento de *Salmonella* spp. frente al método de siembra directa de órganos individuales en el monitoreo de esta bacteria en aves de producción intensiva y extensiva.

Bibliografía

- De Blas, I. (2006). *Working in epidemiology*. Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza. <http://winepi.net/>
- EFSA and ECDC. (2019). The European Union One Health 2018 Zoonoses Report. *EFSA Journal* 17(12):5926.
- Gast, R.K. and R.E. Porter (2020). *Salmonella* infections. Pages 719-753 in *Diseases of Poultry*, 14th edition. D.E. Swayne, ed. John Wiley and Sons, Hoboken, New Jersey.
- Waltman, W.D. (2000). *Methods for the Cultural Isolation of Salmonella*. Pages 355-372 in *Salmonella in Domestic Animals*. C. Wray and A. Wray, ed. CABI Publishing, New York.

B15-CASOS DE MICOPLASMOSIS EN BOVINOS DE DIFERENTES SISTEMAS PRODUCTIVOS EN LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES

Y Acuña¹, E Sticotti², P Tamiozzo², MA Fiorentino¹, E Morrell¹, E Sosa^{1,4}, F Urtizbiria¹, J Lobo¹, C Margineda³, G Cantón¹

¹Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), EEA Balcarce, Argentina. ²Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto, Córdoba, Argentina. ³INTA, EEA Marcos Juárez, Córdoba, Argentina. ⁴Universidad Nacional de La Pampa, General Pico, La Pampa, Argentina. canton.german@inta.gob.ar

Introducción. Las infecciones por *Mycoplasma* spp. provocan diferentes cuadros clínicos en el bovino: artritis, mastitis, neumonías, otitis, entre otros. Generalmente se transmite vía directa por leche de vacas con mastitis o por secreciones respiratorias (aerosoles) o indirectamente, aunque en menor medida, a través del agua y el alimento contaminado con secreciones de animales infectados. En este trabajo se describe la metodología empleada para la detección de *Mycoplasma* spp. en cuatro casos clínicos en bovinos a los que asistió el Servicio de Diagnóstico Veterinario Especializado del INTA Balcarce.

Materiales y métodos

Historia clínica de los rodeos

El caso A ocurrió en un *feedlot* del partido de Carlos Tejedor, donde se engordaban terneros de destete precoz que habían sido inmunizados con una vacuna comercial contra neumonía (tres dosis, a los días 0, 21 y 42 del ingreso) y recibieron metafilaxia con tilmicosina (dos dosis, a los días 0 y 21). El caso B ocurrió en un sistema de cría pastoril intensiva en el partido de General Villegas, donde se engordaban terneros "cola de parición", que habían recibido dos dosis de vacuna contra enfermedad respiratoria. El caso C ocurrió en un tambo en el partido de Trenque Lauquen, con 300 vacas en ordeño que no habían recibido vacuna contra enfermedad respiratoria. El caso D ocurrió en un sistema de engorde pastoril de novillos en el partido de Olavarría, que habían recibido dos dosis de vacuna contra enfermedad respiratoria al ingreso.

Examen post mortem y toma de muestras

Después del examen clínico, los animales más afectados clínicamente (5 del caso A, 1 del caso B, 1 del caso C y 3 del caso D) fueron eutanasiados de acuerdo a las recomendaciones del Comité Institucional para el cuidado y uso de animales de experimentación (CICUAE) del INTA, y se les practicó necropsia. Se recolectaron tejidos en formol tamponado al 10% para el examen histopatológico y de inmunohistoquímica (IHQ). Además, se recolectaron muestras estériles de pulmón, líquido y cápsula sinovial para cultivo microbiológico y muestras de pulmón que fueron conservadas a -80°C para posteriores estudios moleculares (PCR).

Histopatología e inmunohistoquímica

Los tejidos fijados en formol fueron embebidos en parafina, se cortaron a 4-5 µm y se tiñeron con hematoxilina y eosina (HE) para el examen microscópico. Posteriormente fueron seleccionadas secciones de cápsula sinovial y pulmón del caso A, y procesadas para IHQ para la detección de *Mycoplasma bovis* utilizando un anticuerpo monoclonal anti-*M. bovis* (Millipore MAB970) en una dilución 1:100, incluyendo controles positivos y negativos, respectivamente.

Microbiología y PCR

Se sembraron muestras de cápsula sinovial, líquido sinovial y pulmón en medios de Agar Sangre Columbia, Mc Conkey y Hayflick modificado y se incubaron a 37 °C por 24-48 h. Se realizaron improntas de pulmón, se fijaron con calor y se tiñeron con Ziehl-Neelsen (ZN) para detectar bacterias ácido-alcohol resistente. Además, se extrajo ADN de los mismos especímenes utilizando un kit comercial (Puri-Prep S, Inbio Highway, Argentina). Se realizó una *nested*-PCR para amplificar la región intergénica 16S-23S ARNr de *Mycoplasma* spp. Los productos amplificados del caso A fueron purificados (Puriprep-GP Kit, Inbio Highway), cuantificados y secuenciados (ABI 3130xl; Applied Biosystems) y las secuencias fueron curadas utilizando el programa *Clustal Omega software*.

Resultados. En el caso A se vieron afectados el 24% de los terneros de 6-8 meses de edad, con signos de dificultad respiratoria progresiva, de curso subagudo a crónico, y poliartritis. En el caso B se afectó el 50% de los terneros, con signología respiratoria subaguda a crónica y sin buena respuesta a los tratamientos con antibióticos. En el caso C se afectaron 15 vacas, con una presentación en forma de goteo, con signología respiratoria crónica. En el caso D, se vieron afectados el 4% de los animales del rodeo, presentando claudicaciones de diferente grado, poliartritis evidentes en diferentes articulaciones, y en algunos, signología respiratoria leve. En las 10 necropsias realizadas se observaron lesiones macroscópicas compatibles con infección por *Mycoplasma bovis* caracterizadas por la presencia de múltiples secuestros pulmonares, conteniendo exudado caseoso rodeado por tejido fibroso, presencia de adherencias con la parrilla costal, y en algunos casos áreas de hepatización roja; en 8 animales se observó tenosinovitis proliferativa caseosa, artritis fibrinonecrótica, abundantes colectas de líquido sinovial con presencia de hilos de fibrina. Histológicamente se observó bronconeumonía multifocal necrotizante crónica activa caracterizada por un centro de necrosis coagulativa de forma circular bien delimitado rodeado por neutrófilos, leucocitos necróticos y abundante tejido fibroso inmaduro (secuestros), y tenosinovitis necrotizante severa con fibroplasia moderada. En el tejido articular y pulmonar del caso A, se observó inmunomarcación positiva de *M. bovis* en las áreas lesionadas. En muestras de articulaciones y/o pulmón de los 4 casos (A, B, C y D) se amplificó ADN de *Mycoplasma* spp. mediante PCR y se aisló *Mycoplasma* spp. en medio Hayflick. Luego del análisis de las secuencias de los *amplicons* del caso A, se confirmó 100% de homología con *M. bovis*. Asimismo, se aislaron otras bacterias: *Trueperella pyogenes* (caso A y C), *Histophilus somni* (caso A), *Pasteurella multocida* (caso B). La tinción de ZN resultó negativa en todas las improntas analizadas.

Discusión y conclusión. La mayoría de los casos de *Mycoplasma bovis* en bovinos a nivel mundial se asocian frecuentemente a enfermedad respiratoria y articular, existiendo escasos reportes de cuadros clínicos simultáneos de origen respiratorio y articular. En este trabajo se describen cuatro casos en los cuales se confirmó la infección con *Mycoplasma* spp. mediante métodos moleculares y culturales clásicos, tanto en sistemas de engorde a corral, pastoril y de producción lechera. Además, se detectó por IHQ, siendo esta una evidencia fuerte de que era el causal de las lesiones. Los signos clínicos registrados en los distintos establecimientos son similares a los descriptos en la bibliografía: dificultad respiratoria subaguda a crónica y poliartritis. En los casos A y D fue difícil poder establecer la fuente de contagio en estos brotes, ya que los animales provenían de diferentes orígenes. No hubo buena respuesta al tratamiento con antibióticos en los animales severamente afectados. En esta enfermedad es importante realizar una vigilancia activa y estricta, para identificar y apartar tempranamente a los animales clínicamente afectados, posible fuente de infección para el resto del rodeo y para evitar futuros contagios.

Bibliografía

- Gagea *et al.* (2006). JVDI 18, 29-40.
- Margineda *et al.* (2017). Braz J Vet Path. 10, 79-86.
- Nicholas & Ayling (2003). Res Vet Sci 74, 105-12.
- Tang *et al.* (2000). J Microbiol Methods 39, 121-6.

B16-COLECCIÓN DE *Campylobacter fetus* SPP EN UN LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA VETERINARIA

García JA¹, Salazar V^{2,3*}, Méndez, A², Morsella, C², Fiorentino, MA^{2,3}, Cravero S⁴, Farace P⁴, Velilla A², Malena R², Gioffre A⁴, Paolicchi FA^{2,3}. ¹ CONICET; ² Laboratorio de Bacteriología, INTA Balcarce; ³ Facultad de Ciencias Agrarias, UNMdP; ⁴ Instituto de Biotecnología, INTA Castelar. Argentina. *salazar.valeria@inta.gob.ar

Introducción. Las colecciones de cultivos microbianos permiten la conservación de los recursos genéticos y de la biodiversidad de cada región o país. Estas colecciones pertenecen a entidades donde se realizan actividades cuya finalidad es obtener, clasificar, estudiar, preservar y documentar de forma completa y accesible microorganismos de interés, generando información de relevancia en diferentes áreas. El objetivo primario de una colección de cultivos microbianos es mantener las cepas en un estado viable sin cambios morfológicos, fisiológicos o genéticos. Nuestro Laboratorio Veterinario de la EEA INTA Balcarce cuenta con una colección de más de 2000 especímenes bacterianos de diferentes géneros y especies, con cepas de referencia, entre ellas, de *Campylobacter fetus* aisladas de secreciones genitales y fetos bovinos. El género *Campylobacter* comprende 20 especies y subespecies y es reconocida como un patógeno importante en salud veterinaria y salud pública. Particularmente, la especie *C. fetus*, incluye las subespecies *C. fetus fetus* (Cff), *C. fetus venerealis* (Cfv) y *C. fetus venerealis biovar intermedius* (Cfvi), es una de las principales causas de infertilidad, reducción de las tasas de preñez y abortos en bovinos¹. El objetivo de este trabajo es divulgar la colección de *Campylobacter fetus* (CCf) del Laboratorio de Bacteriología de la EEA INTA Balcarce, como miembro de la Federación Latinoamericana de Colecciones de Cultivos (FELACC) e integrante de la Red de Recursos Genéticos del INTA.

Materiales y métodos. La CC se inició en 1989 y cuenta con 160 cepas de *C. fetus* aisladas de bovinos, hasta 2018. Las cepas son originarias de diferentes casos de diagnóstico de enfermedades reproductivas en bovinos en la Argentina. Las muestras de los casos correspondieron a rodeos de establecimientos ganaderos con bajo rendimiento reproductivo e incluyeron mucus cervico vaginal (MCV) de vacas/vaquillonas y esmegma prepucial (EP) de toros recolectadas en medio de transporte Cary Blair, refrigerados y entregados al laboratorio dentro de las 2 a 36 horas posteriores a la recolección. También, a partir de la necropsia de fetos abortados, correspondieron a muestras de pulmón, contenido abomasal y placenta. Las muestras de MCV se sembraron en agar semisólido de Brucella (ABS) con antibióticos y se incubaron durante 48 horas a 37° C en condiciones microaerófilas (90% H₂, 5% O₂ y 10% CO₂). A partir de las 48h el anillo de crecimiento superficial fue inoculado en medio Agar Skirrow (ASK). Las placas se incubaron a 37°C en atmósfera microaerófila y se observaron cada 48h durante 7 a 10 días. Las muestras fetales y de EP se inocularon en ASK y se incubaron en las mismas condiciones de temperatura y atmósfera que las de MCV. Las colonias con morfología compatible con *C. fetus* (convexas, con bordes definidos, brillantes y con tonalidad rosa translúcida), fueron observadas en un microscopio de contraste de fases para verificar la morfología y la motilidad característica del género *Campylobacter* (movimiento espiralado). Las colonias compatibles con *C. fetus* se inocularon en tubos de medio Kligler en pico de flauta para determinar la especie de acuerdo con la actividad de la enzima catalasa (positiva) y la producción de H₂S (negativa). La subespeciación se determinó mediante pruebas bioquímicas: resistencia a la glicina, producción de sulfuro de hidrógeno en medios sensibles con tiras de acetato de sodio (ASe) y supervivencia en cloruro de sodio. Brevemente, 1) Cfv fue identificado cuando no se presentó producción de H₂S, no se observó tolerancia a glicina 1%, ni presentó crecimiento en agar selenito de sodio; 2) Cfvi se clasificó por su tolerancia a glicina 1%, crecimiento en 2 de 5 estrías en ASe y producción leve de H₂S; 3) Cff se determinó por su tolerancia a glicina 1% o mayor, crecimiento de 5 estrías en ASe y producción marcada de H₂S. Todos los aislamientos de la CCf

se conservaron en nitrógeno líquido (-196°C) y en ultrafrío (-80°C), como método de respaldo, utilizando un medio crioprotector a base de caldo tripticasa soja, glicerina y suero equino inactivado.

Resultados. El 94% de las cepas fueron aisladas de establecimientos ganaderos de la provincia de Buenos Aires, el resto correspondieron a Santa Fe, La Pampa y Córdoba. De los 160 aislamientos, 108 (67.5%) fueron de muestras de fetos, 41 (25.5%) de MCV y 11 (7%) de EP. De las muestras de fetos 48 (44.5%) aisladas de pulmón, 55 (51%) de líquido de abomaso y 5 (4.5%) de placenta. La clasificación de subespecies dio como resultado 122 (76%) cepas de Cff, 16 (10%) Cfv, 8 (5%) Cfvi, mientras que en 14 (9%) especies identificadas como *C. fetus* no se realizó clasificación de subespecie. También se caracterizaron por técnicas moleculares y se secuenciaron completamente más de 50 cepas formando parte de referencias y bancos internacionales de referencia^{2,3,4}. Los genomas se encuentran disponibles en el GenBank.

Discusión y conclusión. En la presente CCf la subespecie Cff fue significativamente más aislada, en contraste con la bibliografía donde Cfv es considerada la subespecie de importancia sanitaria y epidemiológica para bovinos. Estos aislamientos de Cff provienen de abortos esporádicos, mientras que los aislamientos de placenta son reducidos debido a la baja remisión de este tipo de muestras, no existiendo diferencias significativas entre la recuperación desde pulmón o abomaso. La recuperación de cepas de secreciones genitales resultó baja ya que no es común el diagnóstico por cultivo de las mismas, asociado a dificultades desde el momento del muestreo y el arribo al laboratorio. La importancia estratégica de esta CCf se centra en mantener este material biológico para describir la biodiversidad regional, uso como herramienta innovativa de diagnóstico, de nuevos inmunógenos, controles de laboratorios y centro de referencia. Además su utilización se manifiesta importante para estudios sobre modelos de infección experimental en animales, investigaciones sobre la interacción huésped-patógeno y evaluación de características bioquímicas y genéticas que podrían influenciar la capacidad de colonización y virulencia, así como en la validación de pruebas moleculares para diagnóstico en diferentes muestras bovinas. La CCf funciona como una biblioteca de material microbiano patógeno vivo, sostenible y estable pues actúa como repositorio de este género, buscando proporcionar herramientas para la enseñanza, la investigación y desarrollo de técnicas diagnósticas y estrategias vacunales con el surgimiento de nuevas cepas. El mantenimiento de la CCf motiva a realizar investigaciones que permitan nuevas tecnologías para control de enfermedades reproductivas⁵. Los mayores porcentajes de aislamiento de Cff de muestras reproductivas nos sugieren una importante participación de esta subespecie en el proceso de colonización, virulencia y patogenicidad en el aborto, pero también como importante patógeno en el proceso de la infección venérea en bovinos.

Bibliografía

- 1-Silveira *et al.* (2018). Diagnosis of Bovine Genital Campylobacteriosis in South America. *Front. Vet. Sci.* 5:321.
- 2- Calleros, L. *et al.* (2017). Assessing the intra-species genetic variability in the clonal pathogen *Campylobacter fetus*: CRISPRs are highly polymorphic DNA markers. *J Microbiol Meth.* 132:86–94.
- 3-Iraola *et al.* (2017). Distinct *Campylobacter fetus* lineages adapted as livestock pathogens and human pathobionts in the intestinal microbiota. *Nature Comm*; 8:1367/DOI10.1038/s41467-017-01449-9.
- 4-Farace *et al.* (2019). L-cysteine transporter-PCR to detect hydrogen sulfide-producing *Campylobacter fetus*. *PeerJ* 7:e7820.
- 5- Tedeschi, R. y De Paoli, P. (2011). Collection and preservation of frozen microorganisms. *Methods Mol Biol.* 675:313-26.

B17-DETECCIÓN DE *Tritrichomonas foetus* y *Campylobacter fetus* spp., POR MÉTODOS CONVENCIONALES Y MOLECULARES A PARTIR DE TOROS INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE

P. Soto⁽¹⁾; J. Soto⁽¹⁾; J.A. García⁽²⁾; A. Forletti⁽¹⁾; C.G. Morsella⁽²⁾; M.A. Méndez⁽²⁾; R. Elechiribehety⁽³⁾; F.A. Paolicchi⁽²⁾; E.E. Lucchesi⁽¹⁾

⁽¹⁾BIOTANDIL (Laboratorio Biológico de Tandil SRL). Montiel 834, Tandil. ⁽²⁾EAAA INTA Balcarce Laboratorio de Bacteriología. ⁽³⁾Med. Vet. del Establecimiento. pedrosoto@biotandil.com.ar

Introducción. La situación epidemiológica en Argentina de la Trichomonosis bovina y Campilobacteriosis genital bovina, varía en las diferentes regiones ganaderas según el grado de control de los factores de riesgo. La infección crónica de los toros y la persistencia de la infección en algunas hembras, son un reservorio para ambas enfermedades. Una práctica adecuada en los programas de control es la identificación y eliminación de los toros infectados. Para ello existen métodos de diagnóstico, validados por la OIE, como el uso de medios de cultivo para *Tritrichomonas foetus* (T.f.) y *Campylobacter fetus* spp. (C.f.), inmunofluorescencia directa (IFD) para C.f. y técnicas de biología molecular (PCR). Se reportan diferencias en la sensibilidad y especificidad de estos métodos (Waldner, 2017) influenciadas por, entre otros factores, la calidad de la muestra y su transporte hasta el laboratorio, cantidad de T.f. o C.f. obtenidas, protocolo de diagnóstico y para la PCR considerar el método de extracción del DNA. El cultivo para T.f. y la IFD para C.f., han sido los más utilizados en Argentina en los últimos 40 años. Recientemente la PCR ha comenzado a implementarse como prueba confirmatoria o como único método de diagnóstico. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la capacidad de detección de T.f. y C.f. a partir de muestras prepuciales, de toros infectados experimentalmente, mediante los métodos de diagnóstico convencionales y moleculares.

Materiales y métodos. El ensayo se realizó en un establecimiento privado en Coronel Vidal, con los animales en condiciones naturales. Se utilizaron 10 toros adultos con 2 muestreos previos al ensayo, negativos a T.f. por cultivo y C.f. por IFD, divididos en 3 lotes de acuerdo con el siguiente diseño de infección experimental: L1 (n=3) con T.f.; L2 (n=4) con C.f. subsp *venerealis* (C.f.v.) y L3 (n=3) con C.f. subsp *fetus* (C.f.f.). **Infección experimental:** Por instilación en el fondo de la cavidad prepucial, de 2 mL con una suspensión de 1×10^6 T.f. (cepa 34518 de BIOTANDIL) o 4×10^7 UFC C.f. (cepas C1Na para C.f.f. y 97/608 para C.f.v., de INTA Balcarce), al inicio del ensayo y una segunda instilación el día 7 antes del primer muestreo, de acuerdo con lo indicado para cada lote. **Muestras:** Se tomaron 4 muestras prepuciales de los 3 lotes experimentales, en los días 7, 14, 21 y 28 post infección, con raspadores descartables, previa tricotomía e higiene del anillo prepucial, e introducido en un tubo con 4 ml de PBS estéril y transportados con refrigeración al laboratorio. De cada muestra se realizaron los siguientes ensayos: **Lote 1: a- Cultivo de T.f.:** se utilizó el medio de cultivo semisólido de BIOTANDIL, sembrado con 500 µl del PBS con esmegma, incubación a 37°C durante 7 días. **b- PCR:** de cada muestra se tomaron dos alícuotas de 500 µl para extracción de DNA con kit comercial High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche) y con un método "in house" de BIOTANDIL. La amplificación del DNA se realizó con una PCR convencional (PCRc) y una PCR en tiempo real (qPCR). Los primers utilizados para la PCRc fueron TFR1-2 y TFR3-4 (Felleisen, 1998). Para la qPCR se utilizó el protocolo y kit comercial de primers aprobados para laboratorios inscriptos en el Programa de Control y Erradicación de Enfermedades Venéreas de la Provincia de La Pampa. **Lote 2 y 3: a- IFD para C.f.:** se realizó con 500 µl del PBS, el cual fue

centrifugado a 4.200 rpm durante 40 minutos; se continuó aplicando el protocolo de diagnóstico indicado en el kit comercial "Conjugado-Campy" de Biotandil. **b- Cultivo de C.f.:** una alícuota del PBS se sembró en medio agar Skirrow e incubado en microaerofilia a 37 °C, con observación cada 48 h durante 10 días. **c- PCR:** Se procedió de la misma manera que con el lote 1, para la PCRc, utilizando los primers CFETSpp L y CFETSpp R (abril 2007), mientras que en la qPCR se empleó el kit comercial aprobado en La Pampa.

Resultados. Se procesaron un total de 40 muestras prepuciales:

LOTE	Cultivo		IFD C.f.	PCRc				qPCR			
				ADN in house		ADN Kit		ADN in house		ADN Kit	
	T.f.	C.f.		T.f.	C.f.	T.f.	C.f.	T.f.	C.f.	T.f.	C.f.
1	91,6	—	—	58,3	—	16,6	—	58,33	—	58,3	—
2	—	56,2	62,5	—	75	—	25	—	25	—	25
3	—	83,3	75	—	100	—	25	—	66,6	—	66,6

Cuadro 1: Porcentaje de detección de toros infectados por método de diagnóstico.

Discusión. El medio de cultivo semisólido para T.f. (L1) permitió detectar el 91,6% de los toros infectados, seguido con un 58,3 %, por la PCRc y qPCR con extracción de DNA in house y kit. Para la detección de C.f.v. (L2) los 3 métodos con mayor porcentaje de detección fueron PCRc DNA in house, IFD y cultivo en medio Skirrow, con un 75, 62,5 y 56,2 % respectivamente. En el L3, infectados con C.f.f. los 3 métodos con mayor porcentaje de detección fueron la PCRc DNA in house, cultivo en Skirrow e IFD, con un 100, 83.3 y 75 % respectivamente. Para la qPCR el DNA extraído por método in house y kit, fue derivado a un Laboratorio Veterinario acreditado en el programa de venéreas de La Pampa para ser procesado con una qPCR multiplex y una confirmatoria T.f. o C.f. / C.f.v. según el lote, utilizando la tecnología de Sybr Green. Los resultados del L1 fueron similares entre la qPCR y la PCRc. En el caso de C.f. (L2 y L3) los % de detección de la qPCR resultaron menores a los obtenidos por los otros 3 métodos de diagnóstico. Las diferencias observadas podrían atribuirse al empleo del Sybr Green como tecnología de detección en la qPCR en vez del empleo de sondas que podrían aumentar la especificidad y sensibilidad de la reacción, o modificaciones en el método de extracción del DNA. Este trabajo estimula a continuar los ensayos para contribuir a la validación de las técnicas de biología molecular a partir de muestras clínicas de toros. De nuestros resultados surge la importancia de combinar más de un método de diagnóstico, y en de emplear la PCR como único método, se sugiere realizar más de un muestreo.

Bibliografía

- Abril, C. *et al.* (2007). European Soc. of Clinical Microbiology, 13:993-1000.
- Felleisen, R.S. *et al.* (1998). Jour. of Clinical Microbiology, 36(2):513-519.
- Waldner, Ch.L. *et al.* (2017). Jour. of Veterinary Research, 81:91-99.
- Silva M.F., *et al.* 2020. BMC Veterinary Research, 16:410-418.

B18-CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL AGUA EN ZONAS RURALES DEL PARTIDO DEL BALCARCE, PROVINCIA DE BUENOS AIRES

V. Salazar^{1,2}; J. Lomónaco¹; P. Nievas¹; F. Paolicchi^{1,2}. 1. Laboratorio de Bacteriología, EEA INTA Balcarce. 2. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata. paolicchi.fernando@inta.gob.ar

Introducción. El agua es el principal vehículo de exposición a los peligros microbiológicos, participando como bebida, en el riego de cultivos o en la conformación de aerosoles. Una gran diversidad de microorganismos pueden encontrarse contaminando este recurso. Según la OMS, más del 80% de las enfermedades en el mundo están relacionadas con el consumo de agua no potable o de mala calidad. Por otro lado, en los sistemas ganaderos tradicionales, especialmente aquellos de carne y leche, el agua de bebida es uno de los nutrientes más importantes y, probablemente, el menos considerado de la dieta de los animales, pudiendo ser un importante vector de microorganismos patógenos. La OMS, la OIE y la FAO fomentan en conjunto la construcción de políticas públicas en concepto de “Una Salud”, ya que la salud humana y la salud animal son interdependientes y están vinculadas estrechamente a los ecosistemas en los cuales coexisten. Cambios en cualquiera de estas tres dimensiones (salud pública, salud animal y salud ambiental) generan necesariamente impactos directos e indirectos en las otras. La provincia de Buenos Aires presenta complejas particularidades con respecto a la hidrogeología regional. El agua subterránea, se halla a profundidades que oscilan entre 5 y 20 metros y sus características son variables¹. La calidad microbiológica del agua se asegura mediante la determinación de microorganismos indicadores. Los más utilizados son los indicadores de contaminación fecal. En nuestro país, el Código Alimentario Argentino (CAA) establece las características microbiológicas que debe presentar el agua para consumo humano, pero no existe legislación ni parámetros establecidos para la calidad microbiológica del agua destinada a bebida animal. El objetivo de este trabajo es caracterizar la calidad microbiológica del agua de zonas rurales y periurbanas del partido de Balcarce.

Materiales y métodos. Se seleccionaron 93 muestras de agua de pozo de zonas rurales y periurbanas del partido de Balcarce que fueron ingresadas al Laboratorio de Bacteriología (EEA INTA Balcarce) desde el año 2012 hasta el año 2020. De acuerdo a lo establecido por el CAA, se realizaron las siguientes determinaciones: 1) recuento de bacterias aerobias mesófilas totales (BAMT), en Agar Plate Count; 2) coliformes totales (CT) utilizando la técnica de tubos múltiples con caldo Mac Conkey (prueba presuntiva) y caldo Verde Brillante Bilis (prueba confirmatoria); 3) presencia de *Escherichia coli* mediante siembra en caldo EC y confirmación por pruebas bioquímicas; 4) presencia de *Pseudomonas aeruginosa* mediante pre enriquecimiento, siembra en Agar Cetrimida y confirmación por pruebas bioquímicas (APHA, 1998).

Resultados y discusión. Del total de muestras analizadas, el 39,78% (n=37) fueron clasificadas como potables desde el punto de vista microbiológico, mientras que el 60,21% (n=56) resultaron no potables por presentar al menos un parámetro por encima de los límites establecidos por el CAA. Considerando las muestras no potables, el grupo indicador CT fue el que se encontró en exceso en la mayoría de los casos (96,43%), seguido de la presencia de *E. coli* (46,43%), BAMT (25%) y presencia de *P. aeruginosa* (12,5%) (gráfico 1). En cuanto al origen de las muestras, el 53% correspondieron a establecimientos agropecuarios, de las cuales el 43% resultaron potables y el 57% no potables; el 34% a establecimientos educativos rurales (escuelas y jardines de infantes), de esta categoría el 28% fueron potables y el 72% no potables; y el 13% a viviendas de zonas rurales y periurbanas, en este caso el 58% fueron potables y el 42% no potables. Los resultados observados son similares a los obtenidos por otros autores que han evaluado la aptitud microbiológica de aguas de pozo en el sudeste bonaerense^{2,3}. El parámetro responsable de la no potabilidad de las muestras en la mayoría de los casos fue

CT. Si bien los coliformes son indicadores de contaminación con enterobacterias de vida libre y/o intestinal, se pudo comprobar la presencia de *E. coli* en un alto porcentaje de estas muestras, lo cual indica contaminación de origen fecal reciente. El recuento de BAMT y la determinación de *P. aeruginosa* son considerados como indicadores de calidad sanitaria, permitiendo evaluar la eficiencia de los sistemas de tratamiento y el grado de limpieza e integridad del sistema de distribución e instalaciones. En este trabajo, el porcentaje de muestras no potables con presencia de *P. aeruginosa* fue similar al reportado en otro estudio realizado en una zona cercana³, sin embargo se debe considerar que al tratarse de una bacteria patógena oportunista, su presencia en agua además de ser un indicador de mala calidad sanitaria, representa por sí misma un riesgo para la salud humana.

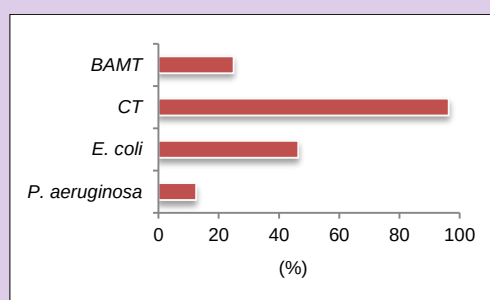


Gráfico 1. Porcentaje de muestras de agua no potable según el parámetro que presentaban por encima de los límites establecidos por el CAA.

En cuanto a la calidad del agua para consumo animal, como ya se mencionó, no existe consenso sobre los parámetros microbiológicos. No obstante, se debería considerar que un recuento elevado de microorganismos indeseables podría representar un riesgo, sobre todo para animales jóvenes. En este sentido, más de la mitad de las muestras analizadas corresponden a explotaciones agropecuarias, donde las fuentes de agua además de abastecer el consumo animal, también proveen de agua a las familias que viven en estos establecimientos, con lo cual la calidad microbiológica en estos casos adquiere mayor relevancia y vinculan directamente el concepto de *Una Salud*.

Conclusión. Este trabajo contribuye al conocimiento de la calidad microbiológica del agua utilizada en zonas rurales y periurbanas del partido de Balcarce y su aptitud para el consumo animal y humano. Es fundamental crear conciencia para que se generen acciones correctivas tendientes a mejorar la calidad del recurso acuífero y se realice el monitoreo en forma periódica. Resulta necesario además realizar estudios que evalúen el efecto que podría tener en los animales el consumo de agua con altos recuentos de microorganismos indicadores de contaminación y de esta manera establecer criterios que permitan controlar su calidad.

Bibliografía

- Herrero, M., Iramain, M., Korol, S. et al. (2002). Calidad de agua y contaminación en tambos de la cuenca lechera de Abasto Sur, Bs. As. (Argentina). Rev. Arg. Prod. Anim., 22(1), 61-70.
- Perez Escalante, J., Andreoli, Y., Puricelli, M. et al. (2018). Calidad bacteriológica de aguas de pozo del sudeste bonaerense en distintas estaciones climáticas del año. Editorial Publitec SAEC y M.
- Vasini, B.; Andreoli, Y. y Cirone, K. (2014). Calidad bacteriológica, determinación de nitratos e investigación de micobacterias en aguas de pozo. La Alimentación Latinoamericana N° 314, pp. 57-58.

B19-AISLAMIENTO DE SALMONELLA SPP. EN CARNE DE POLLO DE VENTA AL PÚBLICO EN ENTRE RÍOS, ARGENTINA

M.A. Soria¹, y D.J. Bueno^{1,2,*}

¹ Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria EEA Concepción del Uruguay, Ruta Provincial 39 Km 143,5, 3260, Concepción del Uruguay, Entre Ríos, Argentina. ² Facultad de Ciencia y Tecnología, Sede Basavilbaso, Universidad Autónoma de Entre Ríos, Barón Hirsch N° 175, 3170, Basavilbaso, Entre Ríos, Argentina. * bueno.dante@inta.gob.ar

Introducción. Se sabe que las aves pueden ser un reservorio de patógenos entéricos humanos, dentro de los cuales se encuentra *Salmonella* spp., presente principalmente en el tracto intestinal de las aves, que a menudo parecen asintomáticas (Khalid y col., 2020). Por otro lado, los alimentos de origen animal, en particular los productos avícolas contaminados como huevos y carne, se han considerado los principales vehículos de infección por *Salmonella* spp. en los seres humanos, principalmente a través del consumo de alimentos contaminados crudos o poco cocidos (Antunes y col., 2016). Por este motivo, determinar la presencia de este patógeno tanto en la piel que cubre la parte del pollo, así como en la superficie de la carne de las partes del pollo sin piel que se venden en los locales de venta al público es importante por su impacto en la salud pública (Guran y col., 2016). Por ello, el objetivo de este trabajo fue comparar dos métodos de aislamiento de *Salmonella* spp., en carne de pollo de venta al público, tanto en piel como en musculo.

Materiales y métodos. Se analizó un total 75 patas-muslos de pollo congeladas adquiridas en 8 locales de venta al público de la ciudad de Concepción del Uruguay, Entre Ríos, Argentina desde marzo a julio de 2021. Las mismas se transportaron al Departamento Avicultura, de la EEA INTA Concepción del Uruguay, donde se analizaron, tanto muestras de piel (N= 75) como de carne (N= 75). En primer lugar, se realizó siembra directa (SD) por impresión la cara interna de las muestras de piel y carne de la misma pata-muslo en agar xilosa lisina desoxicolato (XLD) y agar lisina hierro modificado (LIM). Si durante ese período no había crecimiento bacteriano, la placa se incubó a la misma temperatura durante 24 h más. Posteriormente, se tomaron al menos 2 colonias bacterianas compatibles con *Salmonella* spp. y se le realizaron las pruebas bioquímicas para su confirmación. En caso de no haber colonias compatibles con *Salmonella* spp., igual se tomaron 1-2 colonias. Por otro lado, se realizó el aislamiento por técnica completa (TC). Para ello se tomaron 25 g de piel y 25 g de carne, con pinzas estériles, de las mismas piezas descriptas anteriormente y se pre-enriquecieron en agua peptona tamponada (APT) en relación 1/10 P/V durante 18-24 h a 37 °C. Posteriormente, se tomó 0,1 ml del caldo APT incubado y se lo colocó en un tubo con 10 ml de caldo Rappaport-Vassiliadis (RV) y se incubó a 18-24 h a 41,5 °C. Al término de la incubación se sembraron desde los tubos de RV en agar XLD y LIM, que se incubaron a 37 °C durante 18-24 h. Se tomaron al menos dos colonias compatibles con *Salmonella* spp. y se realizaron las pruebas bioquímicas para su confirmación. En todos los casos, la tipificación se realizó siguiendo el esquema de Kauffmann-White-Le Minor. Se calculó la tasa de aislamiento de cada metodología. A su vez, en base a los resultados de aislamiento de *Salmonella* spp., la concordancia (coeficiente Kappa) de los dos métodos utilizados y los tipos de muestras fue calculado siguiendo el programa *Working in epidemiology* (de Blas, 2006) con un nivel de confianza del 95%.

Resultados. No se aisló *Salmonella* spp. por SD de ambos tipos de muestras. Por otro lado, la tasa de aislamiento de *Salmonella* spp. considerando todas las muestras analizadas fue del 19,3% (29/150), de las cuales el 8,0% (6/75) fueron positivas tanto en piel como musculo, mientras que el 12,0% (9/75) y el 10,7 % (8/75) fueron sólo positivas en muestras de

piel y musculo, respectivamente. Se tipificaron 7 serovares en las muestras de piel: Enteritidis (SE, 6 muestras), Livingstone (SL, 4); Infantis (SI, 1), Typhimurium (ST, 1), Westhampton (SW, 1), Cerro (SC, 1) y S. serovar 4,5:d:- (1). Con respecto a las muestras de musculo se tipificaron 5 serovares: SI (5 muestras), ST (3), SE (3), 4,5:d:- (2) y SL (1). Por otro lado, se observó que 3 muestras de piel con su respectiva muestra de carne no concordaron en el serovar aislado (SC y SE; SW y S. serovar 4,5:d:-; SE y S. serovar 4,5:d:-). La concordancia entre los 2 métodos de cultivo utilizados (SD vs TC) fue de 0, mientras que este parámetro al comparar el aislamiento entre los tipos de muestra fue de 0,273. Por otro lado, la concordancia obtenida al comparar los dos medios de cultivo selectivos-diferenciales utilizados para cada tipo de muestra fue de 1.

Discusión y conclusiones. En cuanto al número de serovares, resultados similares fueron encontrados por Guran y col. (2017), quienes reportaron 5 serovares diferentes (S. serovar Heidelberg, S. serovar Kentucky; ST, SI, S. serovar Seftenberg y S. serovar Thompson) en muestras de carne de pollo. En contraste con estos resultados, Tarabeas y col. (2017) evaluaron un total de 100 muestras de carne de pollo provenientes de diferentes supermercados y sólo pudieron tipificar dos serovares (SE y ST). Por todo ello, el aislamiento por técnica completa utilizado para muestras de piel y musculo de pollo presenta una mayor tasa de aislamiento de *Salmonella* spp. frente al método de siembra directa. Además, se deberían tomar ambos tipos de muestras en pata-muslo de pollo para lograr obtener un dato más real de la contaminación por este patógeno en la muestra descripta anteriormente.

Bibliografía

- De Blas, I. (2006). Working in epidemiology. Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza. <http://winepi.net/>
- Guran, S., Mann, D. y Alali, W. (2017). Salmonella prevalence associated with chicken parts with and without skin from retail establishments in Atlanta metropolitan area, Georgia. Food Control. 73. 462-467. 10.1016/j.foodcont.2016.08.038.
- Antunes, P., Mourão, J., Campos, J. y Peixe, L. (2015). Salmonellosis: the role of poultry meat. Clinical Microbiology and Infection, 22: 110-121.
- Khalid, T., Hdaifeh, A., Federighi, M., Cummins, E., Boué, G., Guillou, S. y Tesson, V. (2020). Review of Quantitative Microbial Risk Assessment in Poultry Meat: The Central Position of Consumer Behavior. Foods. 9:2-26.
- Tarebees, R., Elsayed, M.S.A., Shawish, R., Basiouni, S. y Shehata, A.A. (2017). Isolation and characterization of *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Typhimurium from chicken meat in Egypt. J Infect Dev Ctries 11:314-319.

B20-DETECCIÓN DE *PROTOTHECA* EN MUESTRAS DE LECHE DE TANQUE MEDIANTE EL USO DEL MEDIO DE CULTIVO *PROTOTHECA ISOLATION MEDIUM* (PIM)

Bottini E¹, Cantón J², Lirón JP³, Álvarez LI³ y Monteavaro CE¹. ¹ Laboratorio de Microbiología Clínica y Experimental, Área de Microbiología, SAMP, CIVETAN, UNCPBA-CICPBA-CONICET, FCV. ² Laboratorio de Microbiología Clínica y Experimental, Área de Enfermedades Infecciosas, Departamento de Sanidad Animal y Medicina Preventiva (SAMP), Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN), UNCPBA-CICPBA-CONICET, Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNCPBA). ³ Laboratorio de Farmacología, Departamento de Fisiopatología, CIVETAN, UNCPBA-CICPBA-CONICET, FCV. Tandil, Buenos Aires, Argentina. bottinie@vet.unicen.edu.ar

Introducción. El análisis de leche de tanque es una herramienta de gran utilidad a la hora de monitorear la calidad de leche de un tanque. Mediante la toma de muestras pareadas de leche de tanque y complementándolo con bacteriologías individuales se puede realizar un seguimiento y un diagnóstico de la calidad de leche de un establecimiento. El *National Mastitis Council* (NMC) establece los protocolos de trabajo para realizar estos seguimientos en los cuales detalla que medios de cultivo se deben utilizar para la búsqueda de cada patógeno o grupo de microorganismos en general. Dentro del protocolo de análisis de leche de tanque propuesto por el NMC no está detallada la utilización de un medio selectivo para la búsqueda de *Prototheca* como es el *Prototheca isolation medium* (PIM). Si bien el alga patógena *Prototheca* desarrolla en medios de cultivo comunes como el agar tripteína soja suplementado con 5% de sangre bovina, el medio PIM es un medio de cultivo selectivo que aumenta la sensibilidad de detección de este patógeno en leche. Por otro lado, debido a que esta alga puede provenir tanto de vacas infectadas como del ambiente es que no se le ha dado tanta utilidad a su búsqueda en leche de tanque. En este trabajo, se reporta el uso del medio de cultivo PIM para la detección de *Prototheca* a partir del cultivo de leche de tanque y se evalúa la utilidad del *screening* de este microorganismo en leche de tanque para la posterior búsqueda de *Prototheca* en muestras individuales de leche de cuartos mamarios de vaca.

Materiales y métodos. Las muestras de leche de tanque y de cuartos provienen de 30 tambos ubicados en la Cuenca Mar y Sierras y alrededores. Estas fueron analizadas en un laboratorio privado durante los años 2019, 2020 y 2021 (enero a julio). La mayoría de estos tambos remite mensualmente una muestra de leche de tanque y a su vez muestrean toda vaca que se detecta con mastitis clínica y gran parte de las que presentan mastitis subclínica según el recuento de células somáticas del control lechero o el resultado del California Mastitis test (CMT). Por lo tanto, las muestras de leche de cuartos (pool o individuales) provienen de vacas con mastitis clínica o subclínica. Al protocolo estándar de cultivo de muestras de tanque establecido por el NMC se añadió el cultivo de las muestras de leche en el medio PIM. Se sembraron 50 µl en superficie, se incubó a 37°C en atmósfera aerobia y a las 24 - 48 h se registró el desarrollo de colonias características (Figura 1). A continuación, se realizó la identificación de *Prototheca* por coloración con azul de metileno y observación microscópica de acuerdo a lo descripto por la bibliografía de referencia (Figura 2).



Figura 1. Colonias de *Prototheca* en medio PIM

Las muestras de leche de cuartos se sembraron (10 µl) en agar tripteína soja suplementadas con 5% de sangre bovina de

acuerdo a los establecido en los protocolos del *National Mastitis Council*.

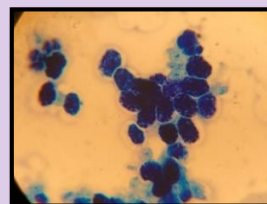


Figura 2. Morfología de *Prototheca*. Coloración con azul de metileno (100x)

Resultados. De un total de 30 tambos que remitieron leche de tanque, 6 tambos tuvieron aislamiento positivo en más de un tanque remitido y 24 tambos fueron negativos. Del total de los tambos positivos a *Prototheca* en sus leches de tanque (6), todos tuvieron al menos un cultivo positivo en muestras de leche individuales. Por otro lado, en ningún tanque negativo a *Prototheca* en leche de tanque mediante la siembra en PIM (24) se pudo identificar *Prototheca* en muestras individuales de leche remitidas, ya sea de vacas con mastitis clínica (MC) o mastitis subclínica (MSC).

Discusión y conclusión. En este estudio el 100 % de los tambos positivos a *Prototheca* en sus leches de tanque fueron positivos en al menos un animal a *Prototheca* (ya sea por mastitis clínica o subclínica). Por lo tanto, la presencia de *Prototheca* en leche de tanque se relaciona con la presencia de *Prototheca* en leche de cuartos mamarios. Esto indica que el hallazgo en leche de tanque es un fuerte indicador de búsqueda en vacas individuales y no se relacionaría con una contaminación ambiental exclusiva. Estos resultados resaltan la utilidad de implementar de rutina el uso del medio PIM para la detección de la presencia de *Prototheca* en leche de tanque. Es importante destacar que el cultivo de leche de tanque no debe ser utilizado como una técnica de diagnóstico única dado que es necesario realizar la correlación de estos resultados con observaciones a campo y otros análisis de laboratorio, tales como el recuento de células somáticas y cultivos de muestras de leche de vacas individuales. En conclusión, el uso de rutina del medio PIM se propone como una estrategia de monitoreo y control de *Prototheca* en rodeos lecheros. Por último, también se recomienda el cultivo de muestras ambientales en un intento por determinar otras fuentes de contagio de estos microorganismos.

Bibliografía

- APROCAL (2021). Examen microbiológico de la leche de tanque. Disponible en: <http://www.aprocal.com.ar>.
- Britten, J. (2021) Mastitis Pathogen Updates from the Field: Perspectives and Data from a Milk Quality Lab. NMC Annual Meeting Proceedings.
- National Mastitis Council (2017) Laboratory Handbook on Bovine Mastitis. Third Edition.
- Pore, R.S. (1973) Selective Medium for the Isolation of *Prototheca* Applied Microbiology, Vol. 26, No. 4, p. 648-649.
- Zaror, L.; Valenzuela, K.; Kruzeb, J. (2011) Mastitis bovina por *Prototheca zopfii*: primer aislamiento en Chile. Arch. Med. Vet, 43, 173-176.

B21-ESTADO ACTUAL DE LAS COLECCIONES DE MICROORGANISMOS VINCULADAS A SANIDAD ANIMAL Y/O PÚBLICA PRESENTES EN EL INTA

Neder, V.^{E1}; Marcellino, R.^{1,3}; Salazar, V.^{1,2}; Soria, M.¹; Baldone, V.¹; Pécora, A.¹; Brihuega, B.¹; Martínez, M.¹; Pertile, C.¹; Sarmiento, N.¹; Fiorentino, A.^{1,2}; Paolicchi, F.^{1,2}; Verna, A.¹; Louge, E.¹; Poo, J.¹ y Perticari, A.¹.¹Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria ²Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata.³IFAB (INTA-CONICET) neder.veronica@inta.gob.ar

Introducción. Los recursos microbianos son un componente estratégico dentro de la biodiversidad global, donde su variabilidad genética como respuesta ya sea al manejo antrópico o eventos de cambio climático, constituyen hitos de adaptabilidad que deben ser considerados. Por tal motivo se considera fundamental su preservación para conocimiento y trazabilidad presente y futura, tal es el caso de microorganismos que pueden producir diferentes enfermedades en animales y en el hombre, por tratarse muchas de ellas de zoonosis. En el INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria) se ha generado una Red de Recursos Genéticos y dentro de esta una destinada a los Recursos Microbianos con la finalidad de compatibilizar protocolos de preservación, documentación, intercambio y adecuación de permisos de acceso vinculados al Protocolo de Nagoya. El objetivo de esta comunicación es dar a conocer el estado actual de las colecciones vinculadas a Sanidad Animal.

Materiales y métodos. Se ha realizado un relevamiento en las Experimentales e Institutos del INTA que cuentan con cepas conservadas de patógenos a partir de actividades de diagnóstico e investigación en Sanidad Animal y que cotidianamente realizan controles de viabilidad.

Resultados y discusión. Integrando la red se encuentran hasta el presente 8 colecciones y 2 bancos de células vinculados a la conservación (Tabla 1). Se compatibilizaron alrededor de 11000 entradas documentadas que contienen 41 géneros bacterianos, 3 de protozoarios, 1 de hongos micotoxigénicos, 34 tipos de virus y 30 líneas celulares. Las especies más representadas son *Salmonella*, *Campylobacter*, *Staphylococcus*, *Mycobacterium*, *Tritichomonas*, *Anaplasma*, *Brucella*, *Babesia*, *Corynebacterium* y *Leptospira*. Un 90% de las colecciones utiliza el nitrógeno líquido para la conservación y como método de respaldo se utiliza ultrafrío a -80 °C y/o liofilización. Los patógenos conservados representan casi la totalidad de los agentes etiológicos que producen enfermedades en los animales de producción presentes en nuestro territorio. El 60% de lo conservado corresponde a enfermedades de bovinos, un 30% a sanidad aviar, un 8% a sanidad de ovinos y el resto a enfermedades de caprinos, zoonóticas y de otras especies animales. Se ha realizado un mapa interactivo con la ubicación geográfica de cada colección. Estos materiales preservados pueden ser hitos de referencia para actividades de diagnóstico, la elaboración de vacunas, para estudios epidemiológicos, etc. Para ello se requiere que estas colecciones de trabajo cumplan un proceso de adecuación y acondicionamiento de controles, caracterización y trazabilidad documentada de todo lo conservado. Como así también a los requerimientos de personal capacitado y de infraestructura de acuerdo al Nivel de materiales conservados (Smith, D., 1996). Finalmente cuando todos los protocolos se encuentren formalizados podrán alcanzar un status de Banco (Alondra, M. et al, 2021). En este grado se facilitará la transferencia de cepas y el intercambio con otros, como así también el depósito y/o resguardo. Actualmente en este proceso de implementación de normas se encuentran nuestras colecciones con el fin proporcionar al sector involucrado materiales biológicos rigurosamente caracterizados.

Cepario	Especies conservadas	Lugar
EEA C. del Uruguay	<i>Salmonella</i>	C. Entre Ríos
EEA Rafaela	<i>St aureus</i> <i>E. coli</i>	Santa Fe
EEA Bariloche	<i>Brucella</i> <i>Corynebacterium</i>	Río Negro
Instituto de Virología	Virus animales	Buenos Aires
	Banco de Células	
EEA Anguil	<i>Tritichomonas</i> <i>Campylobacter</i>	La Pampa
EEA Balcarce	<i>Campylobacter</i> <i>Mycobacterium</i> y otros 30 géneros bacterianos. Hongos micotoxigénicos Virus de animales	Buenos Aires
	Banco de Celulas	
Instituto de Patobiología	<i>Leptospira</i>	Buenos Aires
EEA Mercedes	<i>Anaplasma</i> <i>Babesia</i>	Corrientes

Tabla 1: Caracterización de las colecciones microbianas.

Bibliografía

- 1- Smith, D. (1996). Quality systems for management of microbial collections. In: Culture Collections to improve the quality of life (edited by RA Samson, JA Stalpers, D van der Mei and AH Stouthamer). Baarn. The Netherlands: Centraalbureau voor Schimmelcultures. Pp 504.
- 2-Alondra, María, Díaz-Rodríguez, Lilian, Alejandra Salcedo Gastelum, Fannie Isela Parra-Cota, Gustavo Santoyo, Mariana Laura Puente, Dhruva Bhattacharya, Joydeep Mukherjee and Sergio de los Santos-Villalobos (2021). The Current and Future Role of Microbial Culture Collections in Food Security Worldwide. Frontiers in Sustainable Food Systems. Review Vol.4 January.2021. Art. 614739

B22-PARATUBERCULOSIS EN UN TAMBO CAPRINO DEL NOROESTE ARGENTINO

GV Sandoval¹; MA Fiorentino²; VS Salazar²; C Morsella²; L Mendez²; B Vasini²; A Avellaneda-Cáceres¹; LS Aguirre¹; DM Medina¹; F Paolicchi²; JF Micheloud¹. ¹Área de Investigación en Salud Animal-IIACS-CIAP, Salta, Argentina. ²Laboratorio Bacteriología, Grupo de Sanidad Animal, Unidad Integrada Balcarce, INTA- UNMDP, Buenos Aires, Argentina. sandoval.virginia@inta.gob.ar

Introducción. La Paratuberculosis (PTBC) o enfermedad de Johne, es una enfermedad crónica de los rumiantes producida por *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (Map) que afecta a caprinos, ovinos y otros rumiantes, desencadenando importantes pérdidas productivas. En humanos, se la vincula a la Enfermedad de Crohn y algunos investigadores la consideran una zoonosis. En pequeños rumiantes, la PTBC, tiene un gran impacto económico y su distribución es mundial. Sin embargo, en Argentina los antecedentes de esta enfermedad en cabras y ovejas son limitados. Hasta la fecha, en cabras solo existe la confirmación de PTBC, en un tambo caprino de la provincia de Buenos Aires. En el NOA, pese a la abundancia e importancia del ganado caprino, solo existen evidencias serológicas de la enfermedad, aunque no se menciona la observación de signos clínicos de la PTBC en las majadas bajo estudio. En este trabajo se describen aspectos clínicos, epidemiológicos y patológicos de la enfermedad en un tambo caprino en la provincia de Jujuy.

Materiales y métodos. El problema ocurrió en un establecimiento comercial dedicado a la producción de leche caprina, con aproximadamente 4500 hembras en ordeño ubicado en la localidad jujeña de Huacalera. Motivó la consulta del productor la persistencia de animales positivos a la prueba de tuberculina pese al continuo descarte de animales por más de 5 años. Para el estudio se sometieron a necropsia 31 animales positivos a la prueba de intradermorreacción empleando derivado proteico purificado de *Mycobacterium bovis* (PPD *bovis*). Durante la necropsia se colectaron muestras en formol al 10% para estudio histopatológico y muestras estériles para su estudio bacteriológico. De todos los animales se colectaron muestras de linfonódulos retrofaríngeos para el cultivo de *Mycobacterium bovis*. Para el cultivo de Map, se obtuvieron muestras de materia fecal, ganglios mesentéricos, retrofaríngeos y válvula ileocecal y se sembraron en medio Herrold con y sin Micobactina J. Los cultivos se incubaron a 37 °C hasta 6 meses y se examinaron cada dos semanas para detectar el crecimiento bacteriano. Las colonias con morfología de Map típicas se caracterizaron principalmente en función de la dependencia de la micobactina J y el crecimiento lento. La confirmación de los aislamientos se realizó por PCR IS900. Se realizó la tipificación molecular basada en MIRU (unidades repetitivas intercaladas de micobacterias) y VNTR (número variable de repeticiones en tándem). También se cultivaron los tejidos en medio Stonebrink y Löwenstein-Jensen. Adicionalmente se efectuó frotis de los tejidos con la tinción de Ziehl-Neelsen (ZN) considerándose muestras positivas a aquellas en las que se identificaba la presencia de abundantes bacilos ácido-alcohol resistentes, agrupados en ovillos, compatibles con Map.

Resultados. El 100% de los animales presentaron lesiones macroscópicas compatibles con PTBC de diferente grado de severidad. El 35,5% de los casos presentaron lesiones microscópicas leves (n=11) que consistieron en linfadenomegalia mesentérica, con zonas edematosas y necrosis periférica, enteritis granulomatosa focal en duodeno y yeyuno. El 35,5% (n=11) de las cabras presentaron lesiones moderadas, se observó linfadenomegalia granulomatosa mesentérica difusa y necrosis de tipo laminar en la región subcapsular y enteritis granulomatosa segmental o difusa. El 29% de los animales presentaron lesiones severas (n=9) que consistían en linfadenomegalia con necrosis caseosa. Enteritis granulomatosa difusa, severa en íleon, yeyuno y válvula

ileocecal reactiva. No se observaron lesiones macroscópicas en linfonódulos retrofaríngeos. El 54,8% de los animales fueron positivos a la tinción ZN cuando se analizaron muestras de la válvula ileocecal (n=17). En contraste, todas las muestras de ganglios retrofaríngeos fueron negativas a la tinción con ZN. La histopatología reveló linfadenitis granulomatosa que variaba de leve a severa con focos necróticos y abundante cantidad de células gigantes de Langhans. En intestino las lesiones inflamatorias se limitaron a la presencia de infiltrado linfoplasmocítico en el compartimento proliferativo de la mucosa. Sin embargo, solo 5 animales, que presentaron lesiones severas a la necropsia se pudo identificar bacilos ácido-alcohol resistentes mediante la tinción de ZN. Un 38,23% de los cultivos fueron positivos a Map. Se genotipificaron por completo 16 de las muestras y se clasificaron según las combinaciones INMV (INRA, Nouzilly, MIRU-VNTR). El patrón encontrado en todas las muestras fue INMV2. No se obtuvo aislamiento de *M. bovis* en ninguno de los animales.

Conclusiones. En Argentina, la producción caprina comercial tiende a incrementarse y esto es muy importante en algunas zonas del país como en el NOA. En el presente trabajo, la sospecha clínica de enfermedad por PTBC en un hato de cabras lecheras en la provincia de Jujuy se confirmó mediante técnicas histopatológicas, bacteriológicas y moleculares. El uso de diversas técnicas pudo descartar la presencia de *Mycobacterium bovis* en el hato, como se sospechaba en un principio. Estos hallazgos sugieren que en caprinos es recomendable emplear la intradermorreacción de PPDa (aviar) junto con la PPDb (bovis), debido a que la PTBC puede ser una enfermedad de relevancia en hatos caprinos comerciales en Argentina. Algunas de las proteínas de la PPDb se comparten entre las diferentes especies de micobacterias, lo que puede resultar en reacciones cruzadas a la intradermorreacción. Por tales motivos, la prueba cervical comparada con PPDa aumentaría la especificidad de la intradermorreacción. El genotipo/patrón encontrado coincide con otros trabajos realizados en el país, esto indicaría la relación epidemiológica de Map entre Argentina y Europa. Debido a la falta de conocimiento sobre la PTBC entre los productores de cabras, la falta de regulaciones sobre el comercio y las prácticas de cría de cabras debe esperarse una continua propagación de la PTBC entre y dentro de los rebaños caprinos, a menos que se realice diagnóstico y control de la enfermedad.

Bibliografía

- Collins, M. (2003). Update on paratuberculosis: Epidemiology of Johne's disease and the biology of *Mycobacterium paratuberculosis*. Irish Vet. J. 56: 565-574.
- Gioffré, A., Correa Muñoz, M., Alvarado Pinedo, M.F., Vaca Roberto, J.A., Morsella, C., Fiorentino, M.A., Paolicchi, F., Ruybal, P., Zumárraga, M., Travería, G.E., Romano, M.I. (2015). Molecular typing of Argentinian *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* isolates by multiple-locus variable number-tandem repeat analysis. Braz J Microbiol 46,2,557-564.
- Fiorentino, M.A., Gioffré, A., Cirone, K., Morsella, C., Alonso, B., Delgado, F., Paolicchi, F. (2012). First isolation of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in a dairy goat in Argentina: Pathology and molecular characterization. Small Ruminant Res. 108 (2012) 133-136.

ENFERMEDADES METABÓLICAS Y CARENCIALES

M1-CASO DE HIPOFOSFATEMIA EN UN CAMPO DE LA PROVINCIA DE CORRIENTES

P. Della Rosa¹; J.M. Sala¹; S. Gómez¹; V. Morel^{1,2}; S.G. Caspe¹

¹INTA EEA Mercedes, Juan Pujol al este sin número, Mercedes, Corrientes, Argentina. ² Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Godoy Cruz 2290, CABA, Argentina. dellarosa.paola@inta.gob.ar

Introducción. El fósforo es un nutriente esencial tanto para el bovino como para los microorganismos de su rumen. Este elemento es esencial para la formación y mineralización de los huesos además de otras funciones en el organismo. Durante períodos de deficiencia el organismo extrae calcio y fósforo de los huesos para mantener la homeostasis y las concentraciones normales de estos elementos. Cuando estas reservas se agotan o no son removidas rápidamente, comienzan a hacerse evidentes los síntomas clínicos de deficiencia. En la provincia de Corrientes prácticamente todos los suelos son deficientes en fósforo y sodio, haciendo necesaria la suplementación con los dos elementos para corregir y mantener los niveles de producción adecuados (Mufarrege, 2004). El trabajo presenta un caso clínico de deficiencia de fósforo en un establecimiento ubicado en el departamento de Mercedes (Corrientes).

Materiales y métodos. El problema se originó en el campo antes citado zona de monte espinal, el cual posee un sistema de producción extensivo, dedicado a la cría con bovinos de la raza Braford. Durante el mes de febrero de 2021 se presentó un 6% (20/353) de animales afectados de entre 6-7 años, y un 4% (15/353) de animales muertos. Los animales afectados se encontraban sobre campo natural (zona de loma) y eran suplementados con sales minerales (fósforo al 6% según el fabricante) las cuales previo al suministro eran mezcladas en una proporción 1/5 con cloruro de sodio. La enfermedad era de curso crónico, con pérdida paulatina de peso, dificultad motriz, envaramiento, y pezuñas deformadas con seños. Se realizó la anamnesis y posterior necropsia de un animal afectado, el cual para su edad (6-7 años) presentaba un tamaño aparentemente reducido. Se tomaron muestras de sangre sin anticoagulante a fin de evaluar funcionalidad renal y hepática como así también identificar concentración sanguínea de calcio y fósforo.

Resultados. A la necropsia en abomaso e intestino se observó mucosa sobreelevada con parásitos enquistados. En la corteza renal se observaron múltiples infartos de curso crónico, presencia de cálculos de color negro en pelvis y cálices renales. Se observó atrofia serosa del tejido adiposo. En costillas se observaron múltiples callos óseos, algunas de curso agudo y otras de curso crónico. También se observó adelgazamiento de estructuras óseas y erosiones en cartílagos articulares. Los análisis serológicos (tabla 1) para bilirrubina, albumina, proteínas totales, creatinina, urea y enzimas hepáticas (GOT, GPT y FAL) se encontraron normales (Kahn y Line 2007; Radostits *et al.*, 2002). El calcio con 7,92 mg/dl (VR 8,4-11 mg/dl) se encontró levemente por debajo del valor de referencia, mientras que el fósforo registrado fue de 1,8 mg/dl (VR 4,3-7,8 mg/dl) con una relación 1/4,4 (fósforo/calcio) presentando valores muy por debajo de los normales.

Discusión. Posiblemente el bajo nivel de fósforo producto de un mal uso del suplemento mineral haya provocado la movilización de calcio con el consiguiente cuadro clínico en los animales. Estos datos sumados con los hallazgos de necropsia y datos anamnésicos llevaron a determinar que las pérdidas se produjeron por una deficiencia de fósforo lo que llevó a la hipofosfatemia lo que finalmente ocasionó la muerte. Trabajos realizados por INTA Mercedes demuestran que la falta de una adecuada suplementación de fósforo genera reducción en el apetito, ganancia de peso y preñez. A su vez, el animal pierde estado corporal, los huesos se descalcifican y deforman llevando finalmente a la muerte del animal. Por este motivo y debido a las deficiencias minerales de la zona se recomienda que el suplemento mineral contenga un mínimo de 6% de fósforo, alrededor de 12% de calcio y un 50% de sal (Mufarrege, 2004). Este reporte es de importancia ya que demuestra la necesidad de utilizar suplementos minerales en la zona, sin una mezcla previa con cloruro de sodio.

Bibliografía

- Kahn, C.M.; Line, S.D.V.M. (2007). Guía de referencias. En: El Manual Merck de Veterinaria. Vol I, 6ta ed. Española. Editorial océano. pp 2545-2556.
- Mufarrege, D. (2004). El fósforo en los pastizales de la región NEA. Noticias y comentarios N° 388. p. 4.
- Radostits, O.M.; Gay, C.C.; Blood, D.C.; Hinchcliff, K.W. (2002). Medicina veterinaria: tratado de las enfermedades del ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino. Vol 2. 9 ed. Mc Graw-Hill- Interamericana de España S.A.U. p. 2214.

Tabla 1. Análisis de bioquímica clínica en suero. VR: valores de referencia, Prot totales: proteínas totales.

MUESTRA	BILIRRUBINA			GOT/AST	GPT/ALT	FAL	Fósforo	Calcio	Albumina	Prot totales	Creatinina	Urea
	Directa	Indirecta	Total									
1	0,1	0,1	0,2	108	44	494	1,8	7,92	2,6	5,21	0,91	18
VR	----	----	0,0-0,8 mg/dL	45-110 U/L	6,9-35 U/L	18-500 U/L	4,3-7,8 mg/dl	8,4-11 mg/dl	2,8-3,9 g/dL	6,2-8,2 g/dL	0,6-1,8 mg/dl	7,8-25 mg/dL

M2-HIPOCUPROSIS SEVERA EN UN RODEO DE LA MESETA CENTRAL DE SANTA CRUZ, ARGENTINA

Aguilar, M^{1,2}; Cabrera, R^{2,3}; Chodilef, M^{2,3}; Robles, C^{2,3}; Martínez, A^{2,3}

¹Agencia de Extensión Rural-INTA Pto San Julián; ²SIRSA, Sistema Integrado Regional de Salud Animal; ³Grupo de Salud Animal-INTA Bariloche. aguilar.marcelo@inta.gob.ar

Introducción. En la Argentina, la deficiencia de cobre (Cu) en bovinos ha sido detectada y evaluada desde hace más de 50 años¹. El estudio continuo y sistemático de esta problemática en regiones ganaderas como la Pampa Húmeda, el Noreste Argentino (NEA) y el Noroeste Argentino (NOA), han permitido establecer planes de suplementaciones periódicas con el fin de prevenir la ocurrencia de pérdidas productivas y enfermedad clínica en los rodeos. En la Patagonia, los antecedentes formales de esta deficiencia son escasos, encontrándose sólo un trabajo publicado donde se detectó cupremias bajas de origen primario en bovinos de 5 establecimientos del departamento Pichi Mahuida, en el Noreste de la provincia de Río Negro². En el presente trabajo se brinda información preliminar sobre un brote de hipocuprosis severa en un rodeo bovino de la Meseta Central de la provincia de Santa Cruz.

Materiales y métodos. El establecimiento problema está ubicado en la Meseta Central Santacruceña (-49°35'S-69°15'O). Cuenta con un stock de 85 bovinos cruce británica de raza Hereford. El porcentaje de destete fue del 68% y el porcentaje de preñez en el mes de mayo 2021 fue del 60,4% diagnosticado por tacto rectal. Además, en el predio hay 500 ovinos raza Merino con una señalada en 2021 del 50%. El sistema de pastoreo es extensivo sobre una estepa subarborescente con áreas de mallines mejoradas bajo riego y varias de estas áreas fueron implantadas con diversas especies forrajeras (Festuca, Agropiro y Pasto Ovillo). En febrero de 2021, el propietario detecta una baja performance productiva del rodeo y comenta que los animales adultos incorporados al campo hace 2 años, estaban en mal estado y no habían mudado el manto de pelo. Ante esta situación, en el mes de enero el productor administra cobre vía subcutánea (Cobre LA Proagro®) a los animales adultos con 3 ml (75mg de Cu) y a los terneros más grandes con dosis de 2ml (50mg de Cu), dejando sin dosificar a los terneros más chicos. Ante la consulta del productor, se asistió al establecimiento para revisar el rodeo, determinar los signos clínicos presentes e investigar las posibles causas del problema. Se revisaron clínicamente los animales y se tomaron muestras de materia fecal para estudios coproparasitológicos (HPG y Sedimentación); muestras de sangre a 15 madres con signos clínicos para realizar análisis de Paratuberculosis mediante la técnica de Inmunodifusión en Gel de Agar (IDGA); y muestras de sangre a 13 terneros para determinación de la cupremia.

Resultados. Al revisar el rodeo, se observó en vacas adultas una condición corporal promedio de 4 o 5 puntos (escala 1-10), pelo hirsuto y diarrea con heces de consistencia líquida de color verde claro con olor normal en más del 50% de las madres. Los animales afectados eran todos de la misma categoría (6 dientes). El 25% de los terneros y algunas vacas del rodeo presentaban acromotriquia. Los análisis coproparasitológicos evidenciaron una baja presencia de nematodos ($\bar{X}$: 8; *Rango*: 0-40) y presencia de huevos de *Fasciola hepatica* en el 78,5% de los animales. A su vez, todos los sueros de vacas adultas resultaron negativos a la prueba de Inmunodifusión en Gel de Agar (IDGA) para determinación de Paratuberculosis por *Mycobacterium avium* var. *paratuberculosis*. Los valores de cupremia de los terneros se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1. Valores de cupremia en terneros con y sin acromotriquia en un establecimiento de la Meseta Central de Santa Cruz.

#	Clínica	Tratado	Cupremia*	Tipo
1	Sin Síntomas	30d antes	0.43	Moderada
2	Sin Síntomas	30d antes	0.44	Moderada
3	Sin Síntomas	No	0.10	Severa
4	Sin Síntomas	No	0.24	Severa
5	Sin Síntomas	No	0.10	Severa
6	Sin Síntomas	No	0.40	Moderada
7	Acromotriquia	No	0.11	Severa
8	Acromotriquia	No	0.15	Severa
9	Acromotriquia	No	0.10	Severa
10	Acromotriquia	No	0.11	Severa
11	Acromotriquia	No	0.10	Severa
12	Acromotriquia	No	0.12	Severa
13	Acromotriquia	No	0.10	Severa

Ref.: #: Animal; *: µl/ml. VR: 0.6-1.5 µl/ml.

Discusión. Mediante la información obtenida en este caso, se demuestra por primera vez la ocurrencia de un brote de hipocuprosis en bovinos de la Meseta Central de Santa Cruz. En bovinos, la deficiencia de cobre produce un abanico de signos clínicos como diarrea, úlceras abomasales, anemia, acromotriquia, quebraduras espontáneas; como así también signos más sutiles como menores ganancias diarias de peso en terneros y problemas de fertilidad en madres⁴. Los valores normales de cobre en sangre en bovinos se encuentran entre 0.6-1.5µl/ml. La hipocuprosis según los valores en sangre puede clasificarse como: leve, entre 0.5-0.59 µl/ml; moderada, entre 0.3-0.49 µl/ml; y severa, menos de 0.29 µl/ml. En el presente brote, la hipocuprosis severa se evidencio clínicamente con acromotriquia y diarreas, y en los vientres, se vio afectado el porcentaje de preñez. Debido a que las hipocuprosis moderada y leve generalmente producen enfermedad subclínica⁴, es posible que las deficiencias en la zona sean sub-diagnosticadas. Incluso los terneros previamente suplementados con Cu un mes previo al muestreo, no alcanzaron a regularizar los niveles de cupremia (Tabla 1), evidenciando la necesidad de ajustar las suplementaciones en cuanto a las dosis, vías y productos utilizados. Es por ello, que sería recomendable realizar un mapeo del estado del mineral en los rodeos de la zona con el fin de evaluar la necesidad y diseñar un plan de suplementación estratégica del micromineral acorde. Cabe mencionar que en la zona donde ocurrió el brote, se depositaron cenizas provenientes de la erupción del volcán Hudson en el año 1991, dichas cenizas tenían en su composición azufre (S), un antagonista del cobre en la absorción entérica. Futuros estudios permitirán determinar el origen de la deficiencia con el fin de mejorar las medidas terapéuticas aplicables en la región. Debido a que la alta prevalencia de fasciolosis (*F. hepatica*) en el rodeo pudo haber contribuido a la sintomatología observada en este caso, es recomendable iniciar el control de esta parasitosis.

Bibliografía

- 1- Bingley & Carrillo (1966). Hypocuprosis in cattle in the Argentina. Nature.
- 2- Bolla, Cseh, Kugler, Ferraroti (2002). Niveles de cobre en suelo, agua y suero en bovinos de Pichi Mahuida, Río Negro. RMV.
- 3- Postma & Minatel (2010). Deficiencia de Cu en Argentina. RMV.
- 4- Fazzio (2006). Caracterización de terneros de cría con hipocuprosis. Tesis doctoral. UNLP, Argentina.

EPIDEMIOLOGÍA

E1-EVALUACIÓN DE DOS TECNICAS PARA EL DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS BOVINA EN MUESTRAS DE FAENA, BACTERIOLOGÍA Y PCR DE TEJIDOS

M.N. Aznar^{1*}, M.S. Pérez Aguirreburualde ², S.G. Garbaccio¹, S. Barandiaran³, C. Picasso Risso^{2,4}

1 Instituto de Patobiología - CICVyA - INTA - Argentina; 2 Centro para Salud Animal e Inocuidad Alimentaria, Universidad de Minnesota - Estados Unidos, 3 Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires, Argentina, 4 Facultad de Veterinaria, Universidad de la Republica - Uruguay. aznar.maria@inta.gob.ar

Introducción. La tuberculosis bovina (TBb) es endémica en Argentina. Si bien se desconoce su prevalencia real, el Senasa ha reportado el hallazgo de lesiones compatibles con la enfermedad en animales provenientes de al menos un 10% de los establecimientos ganaderos que faenan en frigoríficos nacionales anualmente. La eficiencia de una prueba diagnóstica es clásicamente evaluada comparándola con una prueba de referencia (método frecuentista), que se asume tiene una Sensibilidad (Se) y una Especificidad (Es) conocida y aceptable. Tradicionalmente, se ha considerado el cultivo bacteriológico como prueba de referencia en el diagnóstico de la TBb, aunque su eficiencia es sub-óptima. En este tipo de situación, cuando no existe una prueba perfecta para referenciar, los modelos bayesianos de clases latentes son una alternativa para evaluar la eficiencia de las pruebas diagnósticas. El objetivo de este trabajo fue comparar la evaluación, mediante los métodos frecuentista y bayesiano, la sensibilidad (Se) y especificidad (Es) de dos pruebas post mortem: el cultivo bacteriológico y la PCR IS6110 en tejidos y la proporción de muestras de lesiones granulomatosas compatibles con la enfermedad que realmente estaban infectadas.

Materiales y métodos. Se obtuvieron 109 muestras de lesiones compatibles a TBb en faena durante los años 2008 a 2019 a las cuales se les realizó PCR y cultivo bacteriano. La evaluación de la eficiencia diagnóstica se llevó a cabo con a) cultivo bacteriano como prueba de referencia (método frecuentista), utilizando la herramienta Epitools (Sargento, 2018) y reportándose media e intervalos de confianza 95%, y b) modelo bayesiano de clases latentes ("latent class analysis, -LCA-"), en ausencia de prueba de referencia. Se utilizó un modelo para una población y pruebas dependientes (Branscum y col, 2005) y se establecieron las distribuciones Beta *a priori* para los parámetros Se y Es y posible proporción de positivos. El LCA se ajustó con OpenBUGS 3.2.3 (Lunn y col., 2009) vía R2OpenBUGS. Las distribuciones *a posteriori* se reportaron como mediana e intervalos posteriores de probabilidad (PPI 95%).

Resultados

En la Tabla 1 se presenta el número de muestras y resultados del cultivo bacteriológico (Cult) y PCR. La proporción de lesiones TBb positivas, Se y Es de las pruebas estimadas por ambos métodos se muestran en la Tabla 2.

Tabla 1

	Cult+	Cult-	Total
PCR +	67	6	73
PCR -	19	17	36
Total	86	23	109

Discusión. La proporción estimada de lesiones de TBb halladas durante la vigilancia en playas de faena fue alta (90,2%). En cuanto a la PCR, las medianas estimadas de la Se y de la Es fueron similares con ambos métodos. LCA: a) PCR: la Se (77,8%) estimada por el LCA fue similar a la del Cult (81,2%) y algo menor a las publicadas por Courcoul y col 2014 (97,0%) y por Barandiaran y col. 2019 (82,9%). La Es (93,5%) fue intermedia a la reportada en esos estudios (97,0% y 89,0%). b) Cult: la Se (81,2%) no difirió de las reportadas en los mismos

estudios (78,1% y 79,9%) y su Sp (95,8%) fue menor (99,1% y 97,5%).

Tabla 2: Se y Es del cultivo y PCR de tejidos y proporción de TBb (Prop) en muestras de lesiones compatibles, estimadas por ambos métodos

	Bayesiano	Frecuentista
Se Cult	81,20% (73,6-87,7)	_____
Es Cult	95,80% (84,4-99,6)	_____
Se PCR	77,80% (68,8-85,4)	77,90% (67,7-86,1)
Es PCR	93,50% (73,0-99,6)	73,90% (51,6-89,8)
Prop	90,20% (79,5-99,0)	67,00% (58,1-75,8)

Conclusión. La proporción de TBb estimada en muestras de lesiones compatibles fue alta. La PCR sería una prueba de utilidad en faena para mejorar la vigilancia debido a que su sensibilidad es similar a la del cultivo. Contar con un resultado casi inmediato permite actuar de manera rápida, identificando fuentes de infección. Sería recomendable, para aumentar aún más la Se diagnóstica en plantas de faena, utilizar la PCR y el cultivo en paralelo, cultivando las muestras de lesiones negativas a PCR. Dado que, en Argentina, la única prueba diagnóstica oficial es *ante mortem* (tuberculinización), la PCR posee el potencial de ser incorporada al Plan de Control y Erradicación, en paralelo al cultivo, para mejorar el diagnóstico *post mortem*.

Bibliografía

- Barandiaran, S., Pérez Aguirreburualde, M.S., Marfil, M.J, Martínez Vivot, M., Aznar, N., Zumárraga, M., Perez, A (2019). Bayesian Assessment of the Accuracy of a PCR-Based Rapid Diagnostic Test for Bovine Tuberculosis in Swine Frontiers in Veterinary Science, vol 6, pág 1-8.
- Branscum, A.J., Gardner, I.A., Johnson, W.O. (2005). Estimation of diagnostic-test sensitivity and specificity through Bayesian modeling. Preventive Veterinary Medicine, Vol 68:145-63. doi: 10.1016/j.prevetmed.2004.12.005.
- Courcul, A., Moyen, J.L., Brugère, L., Faye, S., Hénault, S., Gares, H. (2014). Estimation of Sensitivity and Specificity of Bacteriology, Histopathology and PCR for the Confirmatory Diagnosis of Bovine Tuberculosis Using Latent Class Analysis. PlosONE, vol 9, pág 1-8.
- Lunn, D., Spiegelhalter, D., Thomas, A., Best, N. (2009). The BUGS project: Evolution, critique and future directions. Statistics in Medicine. Published online 24 July 2009 in Wiley InterScience (www.interscience.wiley.com) DOI: 10.1002/sim.3680
- Sargento, E.S.G. (2018). Epitools Epidemiological Calculators. Ausvet. <http://epitools.ausvet.com.au>.

E2-ESTUDIO PRELIMINAR DE LA PRESENCIA DE *BRUCELLA SUIIS* Y *VIRUS DE AUJESZKY* EN PRODUCCIONES PORCINAS DE LA PROVINCIA DE LA PAMPA, ARGENTINA

Murcia, V.N.¹; Fort, M.¹; Giménez, H.¹; Lorda, H.¹ y Beneitez, A.^{1.1} Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Estación Experimental Agropecuaria (EEA) "Ing. Agr. Guillermo Covas" en Anguil, La Pampa. Ruta Nacional N° 5 Km 580. (6326). Murcia.vanina@inta.gob.ar

Introducción. El 80% de la producción porcina de la provincia de La Pampa son producciones familiares que tienen un promedio de 10 cerdas productivas (SENASA, 2018). Estos sistemas productivos se consideran un alto riesgo para el control y erradicación de ciertos agentes infecciosos que no sólo afectan económicamente la producción, sino que, también atentan contra la salud pública (FAO, 2010; Dibarbora *et al.*, 2017). El objetivo de este trabajo fue detectar la circulación de *Brucella suis* (Bs) y el *Virus de Aujeszky* (VA) en 30 establecimientos pertenecientes a productores familiares de las localidades de Catriló, Uriburu y Anguil de provincia de La Pampa.

Materiales y métodos. Se trabajó con 30 pequeños productores familiares de las localidades de Catriló, Uriburu y Anguil de la provincia de La Pampa. Los productores tenían entre 5 a 25 madres en producción con un promedio de 20. Se recolectaron 348 muestras de sangre de reproductores. La toma de muestra se realizó en dos instancias. La segunda etapa se realizó un año después de la primera. En un primer momento se muestreo un 20% del plantel reproductor de cada establecimiento seleccionado (n=255). La segunda etapa del muestreo consistió en la toma de muestra a la totalidad del plantel en aquellos establecimientos que fueron positivos a la presencia de anticuerpos de algunos de los antígenos estudiados, previa eliminación de animales positivos anteriormente (n=93). Las técnicas serológicas que se aplicaron fueron para Bs de aglutinación con antígeno tamponado en placa (BPA) y polarización fluorescente (FPA) según Nielsen *et al.*, (1999). Para VA se utilizó un kit comercial de ELISA de bloqueo (CIVTEST). Para su interpretación se siguieron las recomendaciones del fabricante. Con los resultados obtenidos se estimó la prevalencia de la presencia de anticuerpos para Bs y VA y la prevalencia intra establecimiento, con un nivel de confianza de 95%.

Resultados y discusión. En el primer muestreo, el porcentaje de muestras positivas a Bs fue de 3,13% (n=8), correspondiendo al 6,6% de establecimientos positivos (n=2). Resultados similares fueron obtenidos en el estudio realizado por Dibarbora *et al.* (2017) en el que estudiaron granjas del centro, norte y sur del país y los establecimientos positivos a Bs fueron sistemas productivos al aire libre como en el presente trabajo Mientras que el 14,11% (n=36) de las muestras fueron positivas al VA, correspondiendo al 3,53% de los establecimientos positivos (n=9). En el segundo muestreo, se muestreo la totalidad de los animales reproductores de los establecimientos que resultaron positivos a alguno de los dos agentes infecciosos en el muestreo anterior. No hubo muestras positivas a Bs mientras que, el 16% de las muestras resultaron positivas al VA (n=15), siendo el 45%

de los establecimientos muestreados (n=5). Resultados

Cuadro 1: resultados de animales positivos a Bs y al VA, en el segundo muestreo realizado

Establecimientos	Animales muestreados	Animales reactivos	
		Bs	VA
A	6	0	1
B	20	0	0
C	18	0	6
D	3	0	0
E	15	0	4
F	2	0	0
G	6	0	0
H	2	0	0
I	10	0	2
J	3	0	0
K	8	0	2
Total	93	0/93	15/93

similares a los del presente trabajo, fueron reportados por SENASA (19%) en los relevamientos nacionales del año 2010. La prevalencia encontrada en los establecimientos positivos (A, C, E, I y K) fue de 1%, 6,45%, 4,3%, 2,15%, 2,15% respectivamente. Por otro lado, la circulación del VA se mantuvo en el 16,6% de la totalidad de los establecimientos muestreados, aun con la correcta eliminación de animales positivos. Por el contrario, Bs logro ser eliminada de los predios positivos en el primer muestreo.

Conclusión. Los datos obtenidos con este estudio preliminar, demuestran la presencia de Bs y VA en producciones familiares de las localidades de Catriló, Uriburu y Anguil de la provincia de La Pampa. Este trabajo ha sido un paso importante en el conocimiento de la circulación de estos agentes etiológicos y es fundamental para el desarrollo de estrategias que tiendan a mejorar la eficiencia productiva y la situación sanitaria de las producciones familiares de la provincia.

Bibliografía

- Dibarbora, M., Cappuccio, J.A., Aznar, M.N., Bessone, F.A., Piscitelli, H., Pereda, A.J. y Pérez, D.R. (2017). Detección serológica de *Brucella suis*, virus de influenza y virus de la enfermedad de Aujeszky en criaderos porcinos familiares de menos de 100 madres en Argentina. Revista argentina de microbiología, 49(2), 158-165.
- Nielsen, K., Gall, D., Smith, P., Vigliocco, A., Perez, B., Samartino, L. y Enright, F. (1999). Validation of the fluorescence polarization assay as a serological test for the presumptive diagnosis of porcine brucellosis. Veterinary microbiology, 68(3-4), 245-25.

E3-SEROPREVALENCIA DE BRUCELOSIS CAPRINA EN EL IMPENETRABLE CHAQUEÑO: RESULTADOS PRELIMINARES

N. Monzón¹; F. Cipolini¹; D. Martínez¹; A. Espansandin¹; J. Lozina²; R. Arzú²; V. Yulán²; C. Robles³

¹Facultad de Ciencias Veterinarias-Universidad Nacional del Nordeste. ²Ministerio de Producción Animal Chaco. ³Consultor en Sanidad de Rumiantes, Bariloche-Argentina. nolly.monzon@comunidad.unne.edu.ar

Introducción. La Brucelosis caprina es una enfermedad infecto-contagiosa crónica, zoonótica, producida por *Brucella melitensis* (Alton, 1990). En Argentina, con excepción de la Patagonia, la enfermedad está presente en los hatos caprinos, implicando un problema en la salud humana y animal. Los escasos recursos, el insuficiente acceso a la información y el desconocimiento de medidas de control y prevención, conforman un escenario común de la mayoría de los productores caprinos de la región del oeste chaqueño, en su mayoría pobladores rurales y comunidades de pueblos originarios (Ministerio de Salud de la Nación, 2013). En Argentina está vigente el Plan Nacional de Control y Erradicación de la Brucelosis Caprina que establece la necesidad de generar información en aquellos lugares donde ésta sea insuficiente para permitir la toma de decisiones sanitarias. El objetivo del presente trabajo fue determinar la prevalencia de brucelosis caprina en el Dpto. General Güemes – Chaco.

Materiales y métodos. Para la obtención de las muestras se definió un sistema de muestreo simple en dos etapas, estimando primero la cantidad de establecimientos –para determinar la prevalencia interpredio, y luego la cantidad de animales, –para determinar la prevalencia intrapredio (tabla 1), utilizando el programa Win Episcopo Versión 2.0.

Tabla 1 Estimación de cantidades de establecimientos y animales a muestrear en el Dpto. Gral. Güemes

PASO 1: ESTABLECIMIENTOS		PASO 2: ANIMALES	
Total de establecimientos Gral. Güemes	4152	Total de animales Gral. Güemes	114234
Prevalencia interpredios esperada	35%	Prevalencia intrapredios esperada	10%
Error	5%	Error	1%
Nivel de confianza	95%	Nivel de confianza	95%
Total de establecimientos a muestrear	323	Total de animales a muestrear	3356
Cantidad de animales a muestrear por establecimiento			
3356/323 = 10 caprinos			

Mediante los registros de los 5 Centros de Desarrollo Productivo – CEDEPRO (dependientes del Ministerio de Producción del Chaco), ubicados estratégicamente en la región del Impenetrable, se estimó la cantidad mínima de establecimientos a muestrear por localidad (323/5=65). Se tomaron muestras de sangre (5ml) de hembras mayores de 6 meses de edad mediante venopunción yugular. Las muestras fueron analizadas en el Laboratorio de Sanidad del Ministerio del Chaco por medio de la prueba del Antígeno Bufferado en Placa (BPA) como prueba tamiz. Los sueros positivos a BPA fueron derivados al Laboratorio de Sanidad Animal de la Cátedra de Enfermedades Infecciosas de la FCV - UNNE, para su diagnóstico confirmatorio mediante Fluorescencia Polarizada (FPA). Ambas técnicas fueron realizadas siguiendo las directrices de SENASA (Nicola y col., 2019).

Resultados. En la tabla 2 se exponen los totales correspondientes a productores visitados en cada localidad, animales muestreados, animales con resultados positivos por medio de las técnicas diagnósticas, y los resultados de las prevalencias interpredios e intraprediales de la enfermedad.

Tabla 2 Establecimientos visitados en las localidades del Dpto. Gral. Güemes

Localidad	Est. visitados (n)	Animales muestreados (n)	Est. con animales positivos a ambas pruebas (n)	Animales positivos (n)	Prevalencia Interpredios (%)	Prevalencia intrapredial media y rango (%) en est. positivos
El Espinillo	64	960	1	2	1,56	0,21
Miraflores	69	1035	7	19	10,14	1,83 (6,6-40)
Fuerte Esperanza	78	1170	6	7	7,69	0,59 (6,6-13,3)
Nueva Pompeya	66	1028	36	96	54,54	9,33 (6,6-46,6)
Sauzalito	35	570	17	36	48,57	6,31 (6,6-40)
TOTALES	312	4763	67	160	21,47	3,35

*Est.: establecimientos

Se definió como predio infectado a aquel que tuviera al menos 1 animal con resultado positivo a ambas pruebas diagnósticas (BPA y FPA).

Discusión y conclusión. Robles y col. (2014), definen al departamento de Gral. Güemes en la provincia de Chaco como una región de prevalencias bajas o medias. Sin embargo y siguiendo la misma clasificación propuesta, en las condiciones evaluadas y de acuerdo con los resultados obtenidos (prevalencia interpredial 21,47 y prevalencia intrapredial 3,35%) la situación sanitaria actual del departamento se clasifica como de prevalencia alta. Cabe destacar que dentro de las localidades visitadas se evidenció heterogeneidad, siendo bajas las prevalencias halladas en El Espinillo y elevadas en Fuerte Esperanza, Miraflores, Sauzalito y Nueva Pompeya. De acuerdo con OIE (2016), para establecer estrategias de control y vigilancia, es indispensable regionalizar la seroprevalencia a nivel animal (intrapredial), como a nivel de establecimientos (interpredial). Posteriormente se deben caracterizar los sistemas productivos predominantes de la región a fin de aplicar las estrategias más adecuadas. Los datos obtenidos en este trabajo permitieron demostrar la presencia de la enfermedad en el Dpto. Gral. Güemes. Los diferentes escenarios epidemiológicos revelados, confirman la necesidad de continuar con los muestreos en establecimientos pendientes y en los demás departamentos de la provincia, con el fin de generar información epidemiológica sobre el estado de la brucelosis caprina para poder planificar la implementación de medidas de control y manejo de la enfermedad en humanos y animales.

Bibliografía

Alton, G.G. (1990) *Brucella melitensis*. En: Animal Brucellosis, Ed. por Nielsen y Duncan. CRC Press, Boca Ratón, Florida, USA.
Ministerio de Salud de la Nación. (2013) Enfermedades Infecciosas Brucelosis Diagnóstico de Brucelosis, Guía para el equipo de salud. <http://www.msal.gob.ar/images/stories/bes/graficos/0000000304cnc-guia-medica-brucelosis.pdf>
Nicola, A.M.; Elena, S.; Franco, C. (2019). Manual de diagnóstico serológico de la brucelosis bovina SENASA. Robles C. y col. (2014). Brucelosis caprina en Argentina. Ed. INTA. World Organization for Animal Health (OIE). (2016) Brucellosis OIE Terrestrial Manual.

E4-VIRUS DE LA LEUCOSIS BOVINA: ¿UN PROBLEMA EN RODEOS BOVINOS DE CARNE?

N. Porta¹, G. Suarez-Archilla², I. Álvarez¹ y V. Ruíz¹.

¹Laboratorio de Virus Adventicios, Instituto de Virología e Innovaciones Tecnológicas (IVIT), INTA-CONICET.

²Estación experimental INTA Rafaela. ruiz.vanesa@inta.gob.ar

Introducción. La leucosis bovina enzoótica (LBE) es una infección viral crónica y contagiosa del ganado bovino, causada por el virus de la leucosis bovina (BLV). El BLV es un retrovirus oncogénico del género Deltaretrovirus e infecta principalmente a linfocitos B CD5+IgM+, donde replica produciendo nuevos viriones. Los animales permanecen infectados de por vida, y si bien en la mayoría de ellos la infección es subclínica, el 30% presenta linfocitosis persistente y entre el 1-5 % de los animales infectados desarrolla linfomas malignos en diversos órganos, llevando a la muerte del animal (1). La transmisión natural de la infección puede ser horizontal o vertical, a través del pasaje de linfocitos infectados con el provirus integrado. Por lo tanto, todas las secreciones y excreciones (sangre, leche, calostro, secreción nasal, saliva, semen y orina) son factores potenciales de transmisión viral, en la medida en que contengan linfocitos B (2). La infección por BLV es de alta endemicidad en los rodeos lecheros del mundo. En Argentina, la prevalencia se incrementó drásticamente en las últimas décadas. En el año 2001 el 84% de los rodeos lecheros estaban infectados con BLV, con una prevalencia individual del 33%, mientras que, estudios más recientes de nuestro grupo han demostrado que la prevalencia individual es mayor al 85% (3). Si bien en nuestro país el mayor porcentaje de actividades ganaderas bovinas son destinadas a la producción de carne, los reportes de prevalencia en estos rodeos son escasos, no se encuentran actualizados y corresponden a pocas regiones del país (4, 5). Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue estudiar a nivel nacional la seroprevalencia de BLV en rodeos de cría, a fin de conocer el estado actual de la infección en animales destinados a la producción de carne, para poder así implementar eventualmente medidas sanitarias y de manejo que garanticen la disminución de la diseminación.

Materiales y métodos. La población objetivo del muestreo fueron establecimientos de cría de las principales regiones productivas de la Argentina. Se calculó el número de predios a muestrear (n) tomando como frecuencia estimada la prevalencia hallada en estudios previos, un error absoluto del 5% y un nivel de confianza del 95%. El número de animales a muestrear por establecimiento, estuvo en función del número de animales totales del mismo. La selección de los predios y animales a muestrear dentro de cada predio fue aleatoria. Las categorías analizadas fueron: vacas, vaquillonas y toros. Se aplicó un cuestionario estructurado a los productores y/o veterinarios a cargo de los establecimientos, sobre las prácticas de manejo empleadas en los mismos (vacunación, castración, descorne, palpación, reposición, etc.) con el objetivo de identificar factores de riesgo asociados a la presencia de BLV. De cada animal se obtuvo sangre entera por punción de la vena yugular. Las muestras de plasma o suero se mantuvieron siempre refrigeradas y se remitieron al laboratorio para su análisis. La detección de anticuerpos específicos contra BLV se realizó mediante un ELISA desarrollado y validado en el laboratorio, el

cual utiliza la proteína p24 de la cápside del BLV expresada en bacterias.

Resultados. En la tabla 1 se muestran los resultados obtenidos para las provincias de Buenos Aires, Salta, Córdoba y Santa Fe. Casi el 90% de los establecimientos de cría analizados tienen animales infectados con BLV. En 16 de los establecimientos positivos la seroprevalencia de BLV fue entre 1-10%, mientras que los otros 7 presentaron una prevalencia mayor al 10%. Dos de estos últimos, tienen más del 40% de sus animales seropositivos para BLV. Hasta el momento no se ha realizado el análisis de riesgo por no poseer un número de establecimientos suficiente para el análisis estadístico.

Tabla 1: Seroprevalencia de BLV en rodeos de cría de Argentina.

Provincia	Establec. analizados	Pev. Predial (%)	IC del 95%	Animales analizados	Prev. individual (%)	IC del 95%	Rango de prev (%)
Buenos Aires	7	85.7	59.8-111.6	460	4.35	2.49-6.21	0-12.86
Salta	5	100		440	4.77	2.78-6.76	1.0-18.01
Córdoba	8	75	45-105	519	5.01	3.13-6.89	0-16.67
Santa Fé	6	100		349	23.49	19.04-27.94	2.5-47.19
Total	26	88.4	76.1-100.7	1768	8.43	7.13-9.73	0-47.19

Discusión y conclusión. Estos resultados preliminares sugieren que la infección por BLV se encuentra considerablemente diseminada en rodeos de cría de nuestro país con valores de prevalencia mayores a los reportados anteriormente. Esto puede deberse a la mayor sensibilidad de la técnica utilizada (ELISA), con respecto al IDGA, utilizada en estudios previos; o bien a un aumento real de la prevalencia como consecuencia de cambios en las prácticas actuales de manejo que probablemente aumenten el riesgo de transmisión. Una vez realizado el análisis de riesgo, se podrán identificar prácticas y/o manejos que puedan favorecer la transmisión de BLV en el rodeo e implementar medidas para disminuir su diseminación.

Bibliografía

- 1- Schwartz, I., Lévy, D. (1994) Pathobiology of bovine leukemia virus. *Vet Res* 25:521-36.
- 2- Hopkins, S.G., DiGiacomo, R.F. (1997) Natural transmission of bovine leukemia virus in dairy and beef cattle. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 13:107-28.
- 3- Gutierrez, G., Alvarez, I., Politzki, R. et al. (2011) Natural progression of Bovine Leukemia Virus infection in Argentinean dairy cattle. *Vet Microbiol* 151:255-263.
- 4- Trabattoni, E.M., Moriondo, A. (2016) Leucosis bovina enzoótica en un rodeo de cría. *Rev Vet Argentina XXXIII*:1-6.
- 5- Panei, C., Tassara, F., Pérez Aguirreburualde, M. et al. (2017). Seroprevalencia de infección por el virus de leucosis bovina durante 2015 en rodeos de cría de la Zona Deprimida del Río Salado, provincia de Buenos Aires, Argentina. *Analecta Vet* 37:65-68.

E5-INFECCIÓN POR *Trichinella* spp. EN JABALÍES (*Sus scrofa*) Y EXPOSICIÓN EN CONSUMIDORES DE CARNE DE CAZA DEL PARQUE NACIONAL EL PALMAR, ARGENTINA

A. Tammone ^{1,2*}; E. Riva ^{1*}; W.E. Condorí ^{1,2}; V. Fernández ²; B. Resler ²; M.A. Rivero¹; M. Rodríguez¹; P. Aguirre; L. Loyza ⁴; A.E. Caselli ²; M.M. Uhart⁵; S.M. Estein ¹.

¹Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN), Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNCPBA). ²Programa de Conservación Comunitaria del Territorio FCV, UNCPBA. ³Departamento Zoonosis Rurales (MSPBA). ⁴Parque Nacional El Palmar, Provincia de Entre Ríos. ⁵One Health Institute, School of Veterinary Medicine, University of California, Davis, California, USA. silmares@vet.unicen.edu.ar

Introducción. El jabalí (*Sus scrofa*) es una de las principales especies exóticas invasoras de Argentina, siendo reconocido como una amenaza potencial para la salud pública y animal (Ruiz-Fons, 2015). La triquinosis es una zoonosis endémica en el país y registra la mayor prevalencia de casos en personas en América del Sur (Ribicich *et al.*, 2020). El Plan de Control de Mamíferos Exóticos Invasores del Parque Nacional El Palmar (PNEP), implementado desde el año 2006, es una medida de manejo basada en la participación comunitaria tendiente a disminuir las poblaciones de jabalí. La carne de los animales abatidos es consumida por los cazadores y el personal del parque y es donada a comedores escolares y comunitarios. El jabalí es un hospedador común de *Trichinella* spp. y puede actuar como reservorio para humanos y animales domésticos que consuman carne cruda (curada) o insuficientemente cocida que contenga el estadio infectivo del parásito. En este estudio, evaluamos la presencia de infección por *Trichinella* spp. en jabalíes y la exposición de las personas que los consumen. Además analizamos los factores de riesgo de los consumidores considerando sus ocupaciones dentro del plan de control y sus hábitos de consumo de carne de caza.

Materiales y métodos. Durante los años 2018 y 2019 se recolectaron muestras de sangre y de músculos diafragmáticos, maseteros y de la base de la lengua de jabalíes abatidos en el PNEP (n=49). Los sueros se analizaron mediante un ELISA *in-house* (Riva *et al.*, 2021) y las muestras de músculo mediante digestión artificial (DA) (Gamble *et al.*, 2000) (Laboratorio de Trichinellosis, CIVETAN-UNCPBA). En agosto y noviembre de 2019, personal de salud del Hospital Público San Benjamín (Colón, Entre Ríos) extrajo sangre a las personas (n=63) que participaron voluntariamente del estudio, avalado por el Comité Central de Bioética en la Práctica e Investigación Biomédica de la ciudad de Paraná, Entre Ríos. Además, se les realizó un cuestionario estructurado para obtener información relacionada con la ocupación dentro del plan de control y el consumo de carne de caza. La detección de anticuerpos séricos (Ac) anti-*Trichinella* se realizó mediante Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) (Laboratorio de Triquinosis, Dto. de Zoonosis Rurales, Ministerio de Salud de la Provincia de Buenos Aires).

Resultados. Se detectaron larvas de *Trichinella* spp. en 5/49 (10,2%) jabalíes, con una carga parasitaria $\bar{X}$ de 0,24 larvas por gramo (lpg) (0,06-0,95 lpg). En estos cinco individuos, el peso $\bar{X}$ de las muestras fue de 14,06 g (4,2-18,1 g). La muestra de un individuo juvenil (4,2 g) presentó la mayor carga parasitaria (0,95 lpg). No se detectaron Ac específicos mediante ELISA en jabalíes. Los participantes (52 hombres y 11 mujeres) fueron clasificados según su ocupación en cazadores (n=33), guardaparques (n=15) y otros (brigadistas, personal de apoyo e investigadores, n=15). Ninguno reportó signos clínicos compatibles con la enfermedad. No se detectaron Ac específicos por IFI. El consumo de embutidos crudos se asoció con la ocupación de los individuos (P=0,03297). Los cazadores reportaron 6 veces más consumo de alimentos curados que la categoría "otros" (OR: 6,25; IC95% 1,45-25).

Discusión y conclusión. Nuestros resultados revelan la presencia de *Trichinella* spp. en jabalíes del PNEP y enfatizan la importancia de la vigilancia epidemiológica en esta especie y previo al consumo. Si bien un laboratorio regional analiza regularmente muestras de jabalí del PNEP, la distribución heterogénea de larvas musculares en hospedadores con cargas parasitarias muy bajas podría explicar que en dicho laboratorio no se hayan encontrado larvas por DA. Además, algunas de las

muestras del presente estudio fueron de un peso superior al utilizado en los análisis de rutina, incrementando la sensibilidad diagnóstica. Asimismo, la presencia de bajas cargas parasitarias, o la posibilidad de infecciones tempranas en los jabalíes estudiados (ej. juvenil), podrían explicar una insuficiente respuesta inmune (IgG anti-*Trichinella*) para su detección por ELISA. El consumo de carne de jabalí implica riesgo de exposición a *Trichinella* spp., especialmente cuando la carne se prepara sin una cocción adecuada (Pozio, 2015). En el presente estudio, las personas no refirieron síntomas de la enfermedad y no se detectaron Ac anti-*Trichinella*. Sin embargo, el elevado consumo de carne de jabalí en embutidos crudos constituiría el principal factor de riesgo para los cazadores. Se destaca la necesidad de promover acciones en favor de la detección de las zoonosis y de la seguridad alimentaria de la carne de caza para reducir la exposición de humanos y animales domésticos.

Bibliografía

- Gamble, H.R., Bessonov, A.S., Cuperlovic, K., Gajadhar, A.A., Van Knapen, F., Noeckler, K., Schenone, H., Zhu, X. (2000). International Commission on Trichinellosis: Recommendations on methods for the control of *Trichinella* in domestic and wild animals intended for human consumption. *Vet. Parasitol.* 93, 393–408. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(00\)00354-X](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(00)00354-X)
- Pozio, E. (2015). *Trichinella* spp. imported with live animals and meat. *Vet. Parasitol.* 213, 46–55. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.02.017>
- Ribicich, M.M., Fariña, F.A., Aronowicz, T., Ercole, M.E., Bessi, C., Winter, M., Pasqualetti, M.I. (2020). A review on *Trichinella* infection in South America. *Vet. Parasitol.* <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2020.109234>
- Riva, E., Steffan, P., Amanto, F., Ávila, A., Bernat, G., Fernández, S., Fuentes, M., Estein, S. (2021). Development and validation of an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the detection of antibodies against *Trichinella* spp. in domestic pigs in Argentina. *Proceedings of the 28th International Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology. Poster presentation P-2013.*
- Ruiz-Fons, F. (2015). A Review of the Current Status of Relevant Zoonotic Pathogens in Wild Swine (*Sus scrofa*) Populations: Changes Modulating the Risk of Transmission to Humans. *Transbound. Emerg. Dis.* 64, 68–88. <https://doi.org/10.1111/tbed.123>

E6-VIGILANCIA EPIDEMIOLOGICA DE BRUCELOSIS BOVINA DURANTE EL PERIODO 2020-2021 EN LA CUENCA LECHERA DE TRANCAS, TUCUMAN

Sánchez P. S¹, Araoz J.¹, Cruz M. L.¹ de la Vega A.C.¹

¹Cát. Reproducción Animal/LABRYDEA Facultad de Agronomía y Zootecnia. Universidad Nacional de Tucumán.
Paulaas.sanchez@gmail.com

Introducción. La brucelosis bovina es una enfermedad infectocontagiosa de curso crónico producida por bacterias del género *Brucella*. Constituye una importante zoonosis y ocasiona trastornos reproductivos en los animales afectando la economía agropecuaria. La Cuenca Lechera de Trancas, situada al noroeste de la provincia de Tucumán en la República Argentina, tiene como principal actividad económica la producción lechera. Diferentes trabajos se han desarrollado para observar la prevalencia de brucelosis bovina. Andrada y col.¹ describieron que en La Cuenca de Tranca durante 2013 el 29% de los tambos, implementaron el diagnóstico oficial de Brucelosis, mientras que en el año 2014 la cantidad fue solo del 23%. Asimismo, describieron que la prevalencia de la enfermedad en la región para el primer año fue del 1%, mientras que para el año siguiente esta se vio incrementada en dos puntos porcentuales llegando a valores cercanos al 4%. En el periodo 2015–2016 Araoz J. y col.² estimaron para La Cuenca Lechera una prevalencia de brucelosis del 6% y el 1% respectivamente. En 2019 el programa Nacional de Control y Erradicación de Brucelosis Bovina lanza una nueva Resolución 67/2019 contra la enfermedad. Según Araoz y Col.³ en el primer año de ejecución de la nueva resolución un 95,6 % de los tambos de la Cuenca Lechera de Trancas realizaron el diagnóstico de la enfermedad encontrándose una prevalencia de establecimientos positivos del 2 %. De los establecimientos muestreados el 49% correspondían a pequeños productores. El objetivo del trabajo es describir los resultados de la vigilancia epidemiológica de la Cuenca Lechera de Trancas, Tucumán basada en la Prueba del Anillo en Leche (PAL) analizadas en el LABRYDEA entre agosto 2020 y julio 2021.

Materiales y métodos. El trabajo fue llevado a cabo en el LABRYDEA, único laboratorio de diagnóstico de brucelosis animal de la provincia de Tucumán (perteneciente a la Facultad de Agronomía y Zootecnia, Universidad Nacional de Tucumán, integrante de la red oficial del SENASA), tomando como base de datos las muestras de leche de la Cuenca Trancas durante el periodo agosto 2020-julio 2021 que ingresaban para vigilancia epidemiológica mediante la técnica de diagnóstico PAL. El trabajo se desarrolló en 2 etapas: organización del sistema de información y análisis cuantitativo de los diagnósticos de brucelosis bovina realizados por año y por establecimientos lecheros. Respecto a la organización del sistema de información, en primer término, se cargaron y sistematizaron los datos contenidos en los protocolos oficiales del SENASA, que acompañan a las muestras de leche. Para el análisis cuantitativo de los datos se utilizaron herramientas de estadística descriptiva básica como promedios, razones y proporciones. Se analizaron 17 tambos que totalizan un total de 2671 animales. En promedio los establecimientos cuentan con 279 vacas, aunque la dispersión es variable. En el de mayor tamaño (es decir, que acumula mayor cantidad de animales) observamos 592 vacas totales (es decir, un 22% del total), en tanto que en el más pequeño hay 40 (un, 1,5% respecto de la cantidad total). El muestreo se realizó cada 90 días, tomándose durante el periodo establecido (agosto 2020-julio 2021). Se analizaron un total de 64 muestras de leche, 4 repeticiones de muestras por establecimiento, a excepción de aquellos que no cumplieron con la periodicidad requerida.

Resultados. Según datos de Mesa Lechera de la Cuenca de Trancas, existen 45 establecimientos con límites definidos.

Durante el periodo agosto 2020- julio 2021, se encontró que 17 tambos se incorporaron al método de vigilancia epidemiológica con PAL para mantener su condición de "libre", el total de los establecimientos resultaron negativos a la enfermedad durante todo el periodo analizado (Tabla 1).

Tabla 1: Resultados de la vigilancia epidemiológica de la Cuenca Lechera de Trancas

Remisión de muestras de leche durante el periodo agosto 2020-julio 2021	N° Tambos	Total, muestras
Establecimientos que realizaron 4 repeticiones	15	60
Establecimientos que realizaron 2 repeticiones	2	4
		64
N° de muestras positivas		0
N° de muestras negativas		64

De los 17 predios analizados, 15 cumplen con la periodicidad de recertificación, es decir realizaron el muestreo de leche cada 3 meses, 2 tambos solo hicieron 2 repeticiones de PAL no cumpliendo con la normativa.

Discusión y conclusión. Se puede concluir que un 38 % de los tambos de La Cuenca se incorporó al método de vigilancia epidemiológica PAL en el periodo 2020-2021, con el propósito de mantener su condición de "libre". El 33% de ellos cumplió con la frecuencia en la periodicidad del diagnóstico. Según Araoz y Col.⁴, en el primer año de vigencia de la nueva resolución, el 95,6 % de los establecimientos realizó la determinación de su estatus sanitario, encontrándose una prevalencia de establecimientos positivos del 2%. Sin embargo, la continuidad en la adhesión de la normativa fue baja. En el año 2013 Andrada y col.³ describieron que el 29 % de los tambos implementaba el diagnóstico, mientras que en el 2014 ese porcentaje fue del 23%.

Pasaron 8 años desde la primera publicación que analizaba el grado de adhesión a la normativa que rige el Programa Nacional de Control y Erradicación de Brucelosis Bovina, y a un año de una modificación sustancial en la resolución que busca simplificar el mantenimiento de la condición de "libre", puede observarse que, pese al tiempo transcurrido, la cantidad de tambos de La Cuenca que adhiere y cumple con dicha normativa, a través de la implementación de vigilancia epidemiológica con el método PAL, no se ha incrementado sustancialmente.

Bibliografía

- 1-Andrada, L.E., Aráoz, J., Cruz, L., de la Vega, A., Jorrat, J., González del Pino, F. (2015). Descripción de los diagnósticos de Brucelosis bovina realizados durante el periodo 2013 a 2014 en la cuenca lechera de Tapia-Trancas, Tucumán, Argentina. 3° Reu. Conj. de Soc. de Biología de la R.A. Tucumán, sept.
- 2-Araoz, J., Cruz, L., de la Vega, A., González del Pino, F. (2017) Estudio de los diagnósticos de Brucelosis Bovina realizados durante el periodo 2015-2016 en la Cuenca lechera de Trancas, Tucumán, Argentina. XXII Reunión Científico Técnica De La Asociación Argentina De Veterinarios De Laboratorios De Diagnóstico.
- 3-Araoz, J., Cruz, M.L., Martínez, G.C., Cordileone, G.B., Jorrat, J.J.; de la Vega, A.C.1 (2020) Impacto del nuevo plan de control y erradicación de brucelosis bovina en su primer año de ejecución en la Cuenca Lechera de Trancas, Tucumán. VIII Jornada de Difusión de la Investigación y Extensión. Noviembre. Organizada por la Facultad de Ciencias Veterinarias–UNL. Esperanza, Santa Fe, Argentina.

E7-MORBILIDAD Y MORTALIDAD EN TERNERAS DE RODEOS LECHEROS CON MANEJO INTENSIVO DEL CALOSTRADO

Garro, C.¹, Morici, G.¹, De Alba, P.², Mian, L.³, Wirch S.⁴, Gonzales V.⁴, Schnittger, L.²

1. Instituto de Patobiología (CICVyA – INTA). 2. CONICET. 3. Programa Alta Cría Argentina – SCCL CIALE Alta. 4 Programa alta cría Argentina VAS CIALE Alta. garro.carlos@inta.gob.ar

Introducción La producción lechera en Argentina ha registrado en los últimos años una reducción en el número de tambos y del número de vacas a una tasa del 3,4% y 1.4% anual, respectivamente (OCLA, 2018). La ineficiencia reproductiva y/o de crianza de las terneras de reemplazo podría ser un factor limitante de la capacidad de recambio del rodeo. Las terneras de reemplazo deben ser criadas maximizando la salud y su bienestar ya que representan el futuro de los rodeos lecheros. Los objetivos de nuestro estudio fueron 1) describir las características de crianza de las terneras de reposición en rodeos lecheros con manejo intensivo del calostro, 2) estimar la morbilidad (diarrea y neumonía) y mortalidad en crianza artificial y 3) describir la distribución de estos eventos evaluados durante el período de riesgo.

Materiales y métodos. Se colectó información registrada en bases de datos (Diary Comp 305) de 17 rodeos lecheros, integrantes del programa Alta Cría Argentina. Una encuesta fue elaborada para registrar información de la crianza. El período de estudio fue del 1 de enero al 31 de diciembre de 2020. El período de riesgo de morbilidad y mortalidad evaluado fue el que transcurrió entre los días 1 y 60 de vida de las terneras. La morbilidad y mortalidad fue calculada como el número de terneras que enfermaron o murieron entre el día 1 y 60 de vida/cantidad de terneros nacidos $\times 100$. Sobre la base de lo sugerido por Santman-Berends *et al.* (2019), la mortalidad y la morbilidad fueron calculadas a nivel de rodeo, y la media general y el rango se utilizaron como medida de resumen. Los rodeos que no registraron casos de morbilidad no fueron considerados para el cálculo de la morbilidad general. La definición de caso de diarrea y/o neumonía fue basada en los signos clínicos característicos. Para describir la distribución de la ocurrencia de diarrea, neumonía y mortalidad se empleó una tabla de frecuencia cuyo factor de agrupamiento fueron los días de edad.

Resultados. En total, se analizaron los datos de crianza de 18769 terneras. La mediana de vacas totales de los tambos evaluados fue de 775 ($Q_1=440$; $Q_3=1212$). El 88% y 82% de los rodeos aplicaba vacunas preparado para el control de la diarrea neonatal y de la neumonía, respectivamente. El 76% de los rodeos separaba al ternero de la madre antes de las dos horas de nacido y los restantes, lo realizaban antes de las 24 horas. El 94% de los rodeos suministraba a las terneras calostro por medios artificiales en las primeras 6 horas de vida (2 a 5 litros usando mamadera y/o sonda esofágica). El 88% de los rodeos controlaba la calidad del calostro suministrado (refractometría o calostrómetro) y el 74% utilizaba calostro bovino deshidratado (Calostro 100®) como mejorador. El 47% repetía una segunda toma de calostro dentro de las nueve horas posteriores a la primera toma. La dieta líquida para alimentar a las terneras fue leche y sustituto lácteo en el 77% y 23 % de los rodeos, respectivamente.

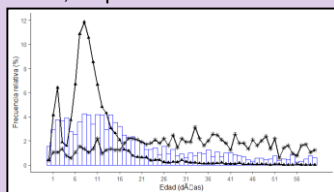


Figura 1: Frecuencia relativa (%) diaria de eventos de diarrea (línea con triángulos), eventos de neumonía (línea con asteriscos) y de mortalidad (barras) entre los días 1 y 60 de vida.

A nivel rodeo, la mortalidad media general, fue del 6,2% (rango: 2,1 – 14.2%; $n=17$). La morbilidad media general de diarrea fue

del 48,5% (rango 1,6 – 87,1%; $n=11$) y la de neumonía, del 11,3% (rango 0,2 – 62%; $n=10$). A nivel individual, se registraron 1599 muertes, 1048 eventos de neumonía y 5992 eventos de diarrea. La frecuencia absoluta relativa agrupada por días de edad se muestra en la Figura 1. La frecuencia acumulada relativa indica que para el día 21 de vida, habían ocurrido el 93% de todos los casos de diarrea, el 69% de todas las muertes registradas y el 29% de todos los casos de neumonía.

Discusión. Este estudio retrospectivo estima los parámetros de morbilidad y mortalidad en terneras de crianza artificial en rodeos lecheros con manejo intensivo del calostro. Aunque se observaron características homogéneas en el manejo de los rodeos, los valores de morbilidad y mortalidad mostraron un amplio rango. La mortalidad es un indicador de las condiciones de bienestar animal de los animales y de la capacidad de progreso genético para para la mejora futura del rodeo. La mortalidad media encontrada fue considerablemente menor a la informada en trabajos locales previos (~27%, Brea *et al.*, 2016) y de rodeos lecheros de Uruguay (10,8%; Schild, 2017). El conocimiento preciso de este parámetro, nos permitir establecer estrategias de mejoras para comparar el progreso sanitario entre rodeos o intra-rodeo en el transcurso del tiempo. La morbilidad de diarrea fue considerable, a pesar de las medidas de manejo tendientes a incrementar la inmunidad pasiva del ternero. Esto sugiere que la adecuada inmunidad pasiva no sería suficiente para controlar el riesgo de enfermar y/o morir. Debe considerarse que las vacunas preventivas, contienen inmunógenos contra varios enteropatógenos como rotavirus, coronavirus, *E. coli*, y *Salmonella*, pero no para *Cryptosporidium parvum*, un parásito endémico y ampliamente distribuido en rodeos lecheros regionales. Por otro lado, otros factores (ambientales y del hospedador) podrían ser causas suficientes de diarrea. La morbilidad de neumonía en los rodeos investigados fue menor a la de diarreas. Las morbilidades de diarrea y neumonía observadas sugieren que el desempeño productivo de un porcentaje considerable de terneras de reemplazo podría verse reducido en la primera lactación, según las observaciones de Heinrichs and Heinrichs (2011). La ocurrencia de diarrea hace su pico máximo entre la primera y la segunda semanas de vida, para luego reducirse a valores irrelevantes, mientras que la neumonía es un evento menos frecuente, pero puede ocurrir durante todo el período de crianza. Un sistema de monitoreo de signos clínicos y un tratamiento precoz podrían limitar el impacto de estas afecciones sanitarias.

Conclusiones. En rodeos lecheros con manejo intensivo del calostro, los hallazgos de morbilidad y mortalidad en terneras pueden ser variables entre rodeos lecheros. Conocer la distribución de la morbilidad y la mortalidad por edad nos permite identificar puntos críticos de control que puedan ser resueltos para prevenir pérdidas económicas en la crianza.

Bibliografía

- OCLA (2018). www.ocla.org.ar/contents/news/details/12486474-informacion-de-la-produccion-primaria
- Heinrichs, A.J., Heinrichs, B.S. (2011). A prospective study of calf factors affecting first-lactation and lifetime milk production and age of cows when removed from the herd1. *J. Dairy Sci.* 94, 336–341. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3170>.
- Santman-Berends, I., Schukken, Y., van Schaik, G. (2019). Quantifying calf mortality on dairy farms: Challenges and solutions. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16381>
- Schild, C. (2017). Estimación de la tasa de mortalidad anual de terneros y caracterización de los sistemas de crianza en establecimientos lecheros de Uruguay. Tesis de maestría. <https://bibliotecadigital.fvet.edu.uy/handle/123456789/2618>
- Brea, M.J., Medina, L.F., Bilbao, G. (2016). Análisis de mortalidad en una crianza artificial de terneros durante el periodo 2012-2015. Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires. Tesina de grado.

E8-VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA DE TUBERCULOSIS: ¿PUEDE EL ENGORDE A CORRAL BRINDAR INFORMACIÓN ADICIONAL?

Garro, C.¹, Ydiart, P.², Molina, M.², Garbaccio, S.¹

1. Instituto de Patobiología (CICVyA – INTA). 2. SENASA. garro.carlos@inta.gob.ar

Introducción. La tuberculosis bovina (TB) es una infección endémica en rodeos bovinos de Argentina. El movimiento de bovinos es un factor de riesgo para el ingreso de TB en rodeos de engorde (Milne *et al.*, 2019). Sin embargo, esta es escasa la información regional sobre la ocurrencia de TB en engordes a corral a pesar de la elevada tasa de contacto, que podría facilitar la transmisión respiratoria (Phillips *et al.*, 2003). Los sistemas de vigilancia epidemiológica permiten la detección precoz de eventos que pueden implicar un riesgo para la sanidad animal y la salud pública. La detección de lesiones compatibles con TB en faena es un sistema de vigilancia epidemiológica que permite identificar animales afectados. Sin embargo, a medida que la prevalencia de TB disminuye en el ganado también lo hace la sensibilidad diagnóstica del sistema. En este contexto, la detección de TB en sistemas de engorde a corral podría, a través del sistema de trazabilidad, identificar potenciales fuentes de infección y direccionar los esfuerzos del plan de saneamiento a los rodeos de origen de los bovinos afectados. Nuestro objetivo fue describir los movimientos de ingresos anuales en un sistema de engorde a corral e identificar la presencia de TB y su procedencia de origen.

Materiales y métodos. Un establecimiento de engorde a corral, ubicado en el dpto. Río Cuarto, provincia de Córdoba, fue investigado. Para describir los ingresos durante el año previo al estudio (Feb 2020-Feb 2021), se utilizó el sistema VGS (Sistema de visualización geográfica) de SENASA. Asimismo, el sistema VGS nos permitió identificar, a través de la trazabilidad, el origen de los bovinos investigados. Para identificar la presencia de TB, se realizó un estudio observacional transversal en marzo 2021 aplicando la prueba de la tuberculina. En total, 367 animales fueron sometidos a la prueba diagnóstica en el pliegue ano caudal interno utilizando una jeringa McLintock. El tamaño del pliegue de piel fue medido en el tiempo 0 (inoculación) y a las 72 hs posteriores utilizando un cutímetro manual. Se registraron los números de caravanas, incluyendo el CUIG (clave única de identificación ganadera), y los corrales a los cuales pertenecían los animales inoculados.

Resultados. Durante el período anual de observación habían ingresado al sistema de engorde a corral un total de 2655 bovinos distribuidos en 41 eventos de ingreso. Todos de razas británicas y cruza con razas índicas. Las regionales de origen de los ingresos correspondieron a los siguientes centros regionales: NOA norte (61%), Chaco – Formosa (12%), La Pampa - San Luis (9%), Buenos Aires norte (7%), NOA sur (5%) y Santa Fe (2%). Las categorías ingresadas fueron novillitos (87%), terneros (7,4%), novillos (2,6%) y vaquillonas (2,5%). Los corrales eran de 2600 metros cuadrados cada uno y contenían entre 60 y 72 animales. Del estudio observacional, se identificó un novillo de raza Hereford como positivo a la prueba de la tuberculina (tamaño final del pliegue = 32 mm). El mismo, pertenecía a un corral que contenía 68 novillitos que habían ingresado al engorde 38 días previos al estudio. Se determinó que el animal positivo era proveniente del dpto. San Martín, provincia de la Pampa. Dicho establecimiento de origen,

estaba registrado como de “cria bovina” desde el año 2017 y no registraba antecedentes de reportes de tuberculosis en faena ni registros de saneamientos para esta enfermedad.

Discusión. Los ingresos anuales descriptos en este estudio demuestran la cantidad y variedad de orígenes del cual pueden provenir los animales en establecimientos de engorde a corral. A diferencia de otras enfermedades infecciosas reportadas en bovinos de engorde a corral (Miranda *et al.*, 2013), la TB nos es prevenible a través de vacunas por lo que el diagnóstico es la única herramienta disponible para detectar y segregar a los animales afectados. Los resultados demuestran que la TB puede estar presente en sistemas de engorde a corral. De igual manera, sugiere una baja prevalencia de infección en estos sistemas de producción. Esto podría deberse a la raza de animales inoculados que provienen en general, de sistemas de producción de cría extensiva donde es conocido que la TB tiene una baja prevalencia. Al mismo tiempo, sugiere que en estos sistemas en engorde a corral con alta carga instantánea (38 mts²/animal), la transmisibilidad intra e inter corral de TB es baja cuando el tiempo de permanencia es limitado. La categoría del animal involucrado (novillito) sugiere que podría transitar un limitado desarrollo de la infección tuberculosa y con ello, una menor probabilidad de transmisión. La ausencia de otros animales infectados sugiere que el animal positivo a TB podría haber ingresado previamente infectado al sistema de engorde a corral. La ausencia de registros de saneamiento en TB del rodeo de origen apoya esta posibilidad. La ocurrencia de animales infectados en sistemas de engorde a corral debe alertar a veterinarios y productores sobre potenciales hallazgos de lesiones o decomisos durante la faena.

Conclusiones. La vigilancia activa de tuberculosis en sistema de engorde a corral en combinación con los datos de trazabilidad del SENASA podrían ser un sistema de vigilancia epidemiológica para identificar potenciales fuentes de infección.

Bibliografía

- Phillips, C.J., Foster, C.R., Morris, P., Teverson, R. (2003). The transmission of *Mycobacterium bovis* infection to cattle. *Res. Vet. Sci.* 74, 1–15.
- Milne, M.G., Graham, J., Allen, A., McCormick, C., Presho, E., Skuce, R., Byrne, A.W. (2019). Variation in *Mycobacterium bovis* genetic richness suggests that inwards cattle movements are a more important source of infection in beef herds than in dairy herds. <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1530-7>
- Miranda, A.O., Zielinski, G., Rossanigo, C. (2013). Sanidad en el Feedlot. Publicación técnica. EEA Anguil; no. 96.

Agradecimientos

A los productores agropecuarios que nos cedieron los animales, las instalaciones y el personal de campo para realizar esta tarea. Este trabajo formó parte del módulo epidemiología del proyecto I103 del Programa Nacional de Sanidad Animal de INTA.

E9-ESTUDIO SEROLÓGICO DE LEPTOSPIRA SPP. EN PORCINOS DE LAS PROVINCIAS DE BUENOS AIRES Y DE LA PAMPA, ARGENTINA

M. Martínez¹, G. Romero¹, C. Sánchez¹, F. Ortega¹, V. Saraullo¹, O. Watanabe¹, M. Hamer¹, S. Grune¹, J. Ponti¹, L. Samartino^{1,2} y B. Brihuega^{1,2}. martinez.mara@inta.gob.ar.

¹Instituto de Patobiología- UEDD IPVET INTA CONICET, Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias y Agronómicas, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Hurlingham, B1686, Argentina. ²Escuela de Veterinaria. Universidad del Salvador, Argentina.

Introducción. La leptospirosis en porcinos constituye un importante problema de salud pública [1]. En muchas partes del mundo, los cerdos son reconocidos como uno de los mamíferos más importantes asociados con la leptospirosis en el hombre y animales [1]. Nuestro objetivo fue el estudio serológico de *Leptospira* spp. de porcinos en las provincias de Buenos Aires y de La Pampa de la Argentina.

Materiales y métodos. Se analizaron 548 muestras de suero porcino, 388 de la provincia de Buenos Aires y 160 de la provincia de La Pampa. La totalidad de las muestras fueron remitidas por laboratorios y veterinarios de las provincias mencionadas. El 100% provenían de establecimientos porcinos. El 87% provenían de animales adultos (80% cerdas y 7% padrillos) y el 13% de cachorros. Los sueros fueron procesados mediante la prueba de aglutinación microscópica (MAT) para detectar la presencia de anticuerpos contra *Leptospira*. La MAT se realizó según el manual de la OIE (OIE, 2019) [2]. Las cepas utilizadas fueron *Leptospira interrogans* (L.i.), serogrupo Pomona serovar Pomona cepa Pomona, L.i. Icterohaemorrhagiae Copenhageni M 20, L.i. Canicola Canicola Hond Utrecht IV, L.i. Sejroe Wolffii 3705, L.i. Sejroe Hardjo Hardjoprajitno, L. borgpetersenii (L.b) Ballum Castellonis Castellon 3; L.b. Tarassovi Tarassovi Perepelcin; y L. kirschneri Grippotyphosa Grippotyphosa Moskva V. Se utilizó un microscopio de campo oscuro Nikon® Eclipse E200 con un objetivo de 10X.

Resultados. En la provincia de Buenos Aires, 124/388 (32%) muestras fueron seropositivas. Serovares: Pomona (90%), Grippotyphosa (18%), Castellonis (12%), Copenhageni (7%), Tarassovi (4%) y Canicola (1%). En la provincia de La Pampa 74/160 (46,25%) muestras fueron seropositivas. Serovares: Pomona (61%), Wolffii (59%), Grippotyphosa (39%), Canicola (16%), Copenhageni (11%), Tarassovi (11%) Castellonis (2.7%), y Hardjo (4%). Los títulos serológicos observados en la provincia de La Pampa fueron: $\leq 1/100$ en 73,6%, $\geq 1/400$ y $\leq 1/800$ en 25.0% y $\geq 1/1600$ en 1.4%, y en la provincia de Buenos Aires fueron: $\leq 1/100$ en el 84,0%, $\geq 1/400$ y $\leq 1/800$ en el 16,0% de las muestras procesadas. El 100% de los sueros positivos resultaron de animales adultos (90% cerdas y 10% padrillos).

Conclusión. Este estudio indica que los porcinos muestreados habían estado en contacto con *Leptospira* spp. En este estudio serológico el principal serovar detectado fue el serovar Pomona, en la provincia de Buenos Aires y los serovares Pomona, Wolffii y Grippotyphosa en la provincia de La Pampa. Estos serovares concuerdan con los genotipos detectados en otros animales domésticos [3 y 4]. La diferencia en los serovares se basa en el comportamiento regional de la leptospirosis porcina, influenciada directamente por condiciones ambientales, por el tipo de explotación y por la

fauna anexa a donde se alojan los animales [5]. Las muestras de la provincia de La Pampa (46.25%) fueron extraídas de animales con signos clínicos compatibles con leptospirosis, sin embargo, las muestras de la provincia de Buenos Aires (32%) se tomaron al azar. Estos datos concuerdan con estudios previos que muestran una seroprevalencia de 30% en porcinos en Argentina [5]. El conocimiento de las zonas de riesgo es fundamental para la adopción de las medidas preventivas adecuadas.

Provincia	N Seroreactividad (%)	Rango de títulos (%) bajos -medios- altos	Serovar predominante
Buenos Aires	124/388 (32%)	84,0 - 16,0 - 0	Pomona (90%)
La Pampa	74/160(46.25%)	73,6 - 25,0 - 1,4	Pomona (61%), Wolffii (59%) y Grippotyphosa (39%)

Tabla 1. Seropositividad de *Leptospira* spp en porcinos de las provincias de Buenos Aires y La Pampa, Argentina.

Bibliografía

- Ospina-Pinto, M.C. and Hernández-Rodríguez, P. (2021) Identification of *Leptospira* spp. in the animal-environment interface (swine-water) in pig production cycle, Trop. Anim. Health Prod., vol. 53, no. 1.
- OIE (2019), Manual de las pruebas de diagnóstico y de las vacunas para los animales terrestres (mamíferos, aves y abejas).
- Brihuega, B. (2008). Leptospirosis: Diagnóstico y tipificación en Temas de zoonosis IV. Asociación Argentina de zoonosis. Págs. 221-247.
- Cacchione, R. (2008). Mofo-fisiología y metabolismo de las leptospirosis. Control y profilaxis en Temas de zoonosis IV. Asociación Argentina de zoonosis. Págs. 229-235.
- Petrakovsky, J., Tinao, M., Esteves, J.M. (2013) Leptospirosis porcina: Prevalencia serológica en establecimientos productores de la República Argentina. Rev. MVZ Cor. Vol. 18, 1, Pag. 3282– 3287.

E10-ANAPLASMOSIS EN LA CUENCA LECHERA DE VILLA MARÍA, CÓRDOBA

Echaide, I.¹, Martínez Pería, M., F.², Torioni de Echaide, S.¹, Amherd, P.¹, Moretto, M.³ y Primo, E.¹

¹Laboratorio de Inmunología y Parasitología, INTA Rafaela - INTA. ²Lab. Nuevo Laver, V. María, Córdoba. ³Agencia de Extensión Rural de Villa María. Córdoba. echaide.ignacio@inta.gob.ar

Introducción. La anaplasmosis bovina es una enfermedad infecciosa producida por la bacteria intraeritrocítica *Anaplasma marginale*. Se manifiesta por anemia severa y elevadas tasas de mortalidad de bovinos adultos. En Argentina es enzoótica tanto en áreas infestadas por uno de sus transmisores, la garrapata *Rhipicephalus microplus* (norte del paralelo 31°S) y en la zona libre de este ácaro (paralelos 31°S y 33°S), con una distribución no uniforme. Al sur del paralelo 33°S ocurren esporádicamente brotes de la enfermedad, por la introducción de bovinos portadores asintomáticos desde zonas endémicas. Eritrocitos infectados de esos animales también se transmiten a los bovinos susceptibles a través de insectos hematófagos y agujas hipodérmicas (iatrogenia). La muerte de bovinos con anaplasmosis aguda puede evitarse por el tratamiento oportuno con antibióticos y puede prevenirse mediante la vacunación con *A. centrale* viable, especie de menor patogenicidad. El diagnóstico de los casos agudos se confirma mediante microscopía óptica de frotis de sangre. La detección de portadores asintomáticos se realiza mediante pruebas serológicas (Ej. ELISA) y eventualmente técnicas moleculares para diferenciar especies de *Anaplasma* (Ej. PCR). El objetivo de este estudio fue establecer la difusión de la anaplasmosis en rodeos lecheros del área de influencia de Villa María, Córdoba.

Materiales y métodos. El estudio incluyó áreas de los departamentos San Martín, Juárez Celman, Río Segundo, San Justo, Tercero Arriba y Unión de la provincia de Córdoba, donde existen aproximadamente unos 1500 establecimientos lecheros (Dpto. Lechería, Min. Agric. Córdoba, 2019). Con el apoyo de Médicos Veterinarios de la zona, se realizó un muestreo aleatorio simple transversal (95% IC, 7% E) para una prevalencia predial esperada del 20% e intrapredial promedio esperada del 4% (Thrusfield, 2005), mediante el programa Win Episcopo 2.0. Éste incluyó una encuesta epidemiológica *ad hoc* (conformación del rodeo, manejo), factores de riesgo (reposición externa de reproductores, rodeos vecinos con anaplasmosis endémica) y antecedentes clínico-patológicos compatibles con la enfermedad. Se analizaron 114 rodeos lecheros y 29-30 bovinos por rodeo que incluyeron vacas, vaquillonas y toros (n=3411). De cada bovino se obtuvieron 5 ml de sangre y los coágulos y sueros y se almacenaron a -20°C hasta su procesamiento. Para la detección de anticuerpos contra *Anaplasma* spp se utilizó como prueba tamiz un ELISA *sandwich* (ELISAs) según Primo *et al.* (2019) y como confirmatoria, un ELISA de competición (ELISAc) producido en el LIPVet-EEA Rafaela según Torioni de Echaide *et al.* (1998), ambos basados en la proteína recombinante MSP5 de *Anaplasma* spp. Los resultados de ELISAs se expresaron en % de positividad (%P) y se usó un punto de corte $\geq 50\%P$; los de ELISAc se expresaron en % de inhibición (%I) y se usó con un punto de corte $\geq 30\%I$. Para diferenciar las infecciones causadas por *A. marginale* o *A. centrale*, se extrajo ADN de los coágulos de sangre de los bovinos ELISAs positivos y se analizaron mediante la prueba de PCR anidada (nPCR) según Molad *et al.*, (2006). El rodeo se consideró infectado cuando al menos había un bovino positivo por ELISAs y ELISAc o mediante ELISAs y nPCR. Cuando no fue posible identificar la especie actuante, el rodeo se categorizó como infectado por *Anaplasma* spp.

Resultados. El 91 % de los rodeos muestreados tenía una población promedio de 280 ± 98 vacas >3 años de edad. En el 49% de los rodeos se hacía reposición externa de toros, en el 30% de vacas o vaquillonas y en el 30% había interacción con rodeos vecinos. En el 25% de los rodeos se identificaron bovinos con anemia, ictericia, depresión y caída de la producción láctea. La prevalencia poblacional de anaplasmosis fue del 3% (101/3411). La prevalencia predial fue del 19% (22/114) y la intrapredial varió entre 3 y 27% (n=19). No se

incluyeron 3 rodeos vacunados con *A. centrale*. El 55% de los rodeos positivos tuvo una prevalencia $\leq 10\%$. Dos rodeos vacunados con *A. centrale* después de un brote por anaplasmosis tuvieron una prevalencia de 50% y 63%. La PCR identificó *A. marginale* en 7 de los 22 rodeos positivos y *A. centrale* en tres de ellos. Ésta última especie también fue identificada en otros 6 rodeos. En el 70% de los rodeos positivos se registraron signos clínicos compatibles con anaplasmosis, o antecedentes de la enfermedad en rodeos vecinos. En el 59% de los rodeos positivos se identificó la especie de *Anaplasma* actuante. *Anaplasma centrale* fue la especie más frecuente y se observó coinfección entre *A. marginale* y *A. centrale*. La asociación entre rodeos con *Anaplasma* spp y el atributo "presencia de signos clínicos en el rodeo propio o vecino", tuvo un OR= 14,2418 (IC95% 4,9150, 41,2667) y la asociación con "Rodeos con reposición externa de reproductores", tuvo un OR= 4,000 (IC95% 1,042, 14,4902). Ambas asociaciones son significativas y se consideran factores de riesgo.

Discusión. Este relevamiento confirma la expansión de la anaplasmosis causada por *A. marginale* en la Cuenca lechera de Villa María, aunque aún con bajo nivel de endemicidad. También se verificó la utilización incipiente de *A. centrale*, como inmunógeno vivo para su prevención. La expansión es consecuencia de la introducción de bovinos portadores a rodeos susceptibles. Esto incluye a los bovinos vacunados como potencial fuente de infección por *A. marginale* porque algunos podrían estar coinfectados. Esto soporta la importancia de los períodos de cuarentena y análisis serológicos en simultáneo, antes del ingreso de bovinos con estado sanitario desconocido.

El uso de tres pruebas de diagnóstico incrementó la precisión para identificar el estatus de la mayoría de los rodeos. Sin embargo, en 9 rodeos con serología positiva, no se pudo identificar *A. marginale* y/o *A. centrale* mediante nPCR. Se deberían profundizar los estudios para descartar la presencia de otras especies de *Anaplasma* que podrían ser detectadas sólo por las pruebas serológicas.

Conclusiones. El uso estratégico de las pruebas serológicas y su interpretación en el contexto epidemiológico de cada rodeo permite definir la presencia de portadores de *Anaplasma* spp. La bacteriemia parasitemia de *A. marginale* observada en frotis, junto a los datos clínicos y epidemiológicos son factores determinantes para confirmar brotes de anaplasmosis. El uso racional de la vacuna basada en *A. centrale* en esta región, permitirá evitar severas pérdidas económicas por mortalidad de bovinos adultos.

B Bibliografía

- Molad, T., Mazuz, M., Fleiderovitz, L., Fish, L., Savitsky, I., Krigel, Y., Leibovitz, B., Molloy, J., Jongejan, F., Shkap, V. (2006). Molecular and serological detection of *A. centrale* and *A. marginale*-infected cattle grazing within an endemic area. *Vet. Microbiol.* 113:55-62.
- Primo, M., Thompson, C., Valentini, B., Sarli, M., Novoa, B., Mangold, A., de Echaide, S.T. (2019). Development of a novel fusion protein with *Anaplasma marginale* and *A. centrale* MSP5 improved performance of *Anaplasma* antibody detection by cELISA in infected and vaccinated cattle. *PLoS One*;14 (1):e0211149.
- Thrusfield, M. (2005). *Veterinary epidemiology*. 2nd Edition, Blackwell Science, Oxford, 117-198.
- Torioni de Echaide, S., Knowles, D.P., McGuire, T.C. Palmer, G.H., Suarez, C.A., and McElwain, T.F. (1998). Detection of cattle naturally infected with *Anaplasma marginale* in a region of endemicity by nested PCR and a competitive ELISA using recombinant MSP-5. *J. Clin. Microbiol.* 36: 777-782.

INMUNOLOGÍA

11-PROPUESTA DE REVISIÓN DEL PUNTO DE CORTE PARA LA TÉCNICA DE POLARIZACIÓN FLUORESCENTE EN EL DIAGNÓSTICO DE BRUCELOSIS EN BÚFALOS

D. Martínez¹, F. Cipolini¹, C. Storani¹, E. Martínez¹, N. Monzón¹, G. Espasandín¹

¹ Cátedra de Enfermedades Infecciosas, Facultad de Ciencias Veterinarias- UNNE., Facultad de Ciencias Veterinarias. Sgo. Cabral 2139, 3400, Corrientes demartinez@vet.unne.edu.ar

Introducción

En el nordeste argentino la cría de búfalos representa una alternativa de creciente desarrollo, dada la posibilidad de esta especie de volver productivos a los campos marginales. En la mayoría de los casos, bovinos y bubalinos cohabitan en los establecimientos agropecuarios. Desde 2005 se incluye al búfalo en el Plan Nacional de Control y Erradicación de la brucelosis Bovina (SENASA, Res. 725/2005). El Plan establece la obligatoriedad de la vacunación con *B. abortus* C19 y el diagnóstico serológico y eliminación de reaccionantes positivos según pruebas diagnósticas oficiales (SENASA, Res. 438/2006). También establece que los bubalinos reproductores deben ser negativos para brucelosis según pruebas serológicas realizadas en laboratorio de red (SENASA 67/2019). Dentro de las técnicas oficiales está incluida la polarización fluorescente (FPA) y en los laboratorios se utiliza, en el caso de los bubalinos, la interpretación de resultados estandarizados para el ganado bovino. En trabajos recientes del grupo de investigación se encontró que el punto de corte óptimo en sueros bubalinos, basado en el análisis ROC de los resultados de FPA comparados con la técnica de referencia internacional, Fijación del Complemento, sería inferior al de bovinos (Martínez, 2012; Martínez *et al.*, 2021). El objetivo de este trabajo fue analizar los resultados a FPA en sueros bubalinos siguiendo dos diferentes interpretaciones, la actualmente utilizada para bovinos y la alternativa encontrada por el grupo.

Materiales y métodos

Se analizaron los resultados de la técnica serológica de FPA aplicada a sueros de 524 bubalinos provenientes de establecimientos pecuarios de Corrientes (n=5) y Formosa (n=1). Los muestreos se realizaron entre diciembre 2019 y junio 2021, con el objetivo de sanear y/o trasladar hacienda bubalina, siguiendo lo indicado en la reglamentación vigente. Los sueros se procesaron en el laboratorio de Red SENASA LR0205 mediante las técnicas serológicas de Antígeno bufferado en placa (BPA) como tamiz y de FPA como confirmatoria. Para este trabajo se interpretaron los resultados de FPA utilizando dos puntos de corte diferentes: el vigente para bovinos (negativos < 94 mP, sospechosos entre 94 y 104 mP y positivos ≥ 105 mP) y un punto de corte alternativo (negativos ≤ 86 mP y positivos ≥ 87 mP) (Martínez *et al.*, 2021).

Resultados

En todos los rodeos bubalinos hubo reaccionantes positivos a las técnicas de BPA y FPA, en distinta proporción (Tabla 1).

Tabla 1. Número de animales muestreados y porcentaje de positivos a BPA y a FPA usando dos diferentes puntos de corte en muestras de 524 búfalos de Corrientes y Formosa.

ID Est.	Animales muestreados (n)	Pos BPA (n)	Pos a BPA (%)	Pos FPA PCB (n)	Pos FPA PCB (%)	Pos FPA PCA (n)	Pos FPA PCA (%)
1	67	5	7,46	3	4,48	4	5,97
2	13	1	7,69	1	7,69	1	7,69
3	52	20	38,46	0	0,00	3	5,77
4	122	26	21,31	7	5,74	17	13,93
5	34	3	8,82	2	5,88	2	5,88
6	236	42	17,80	30	12,71	33	13,98
Total	524	97	18,51	43	8,21	60	11,45

*ID Est.= establecimiento, Pos= positivos; PCB= punto de corte bovino; PCA= punto de corte alternativo

En la figura 1 se muestra cómo se distribuyen los status de los sueros reaccionantes a BPA e interpretados luego según los dos diferentes puntos de corte a FPA.

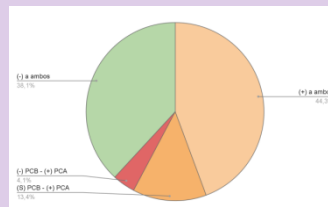


Figura 1. Comparación de los status otorgados a sueros bubalinos reaccionantes a BPA y analizados luego según FPA, utilizando dos diferentes puntos de corte.

* (-) = negativo; (+)= positivo; (S)= sospechoso; PCB= punto de corte bovino; PCA= punto de corte alternativo.

Como puede observarse, existe una proporción de sueros bubalinos que, utilizando el punto de corte estandarizado para bovinos, obtiene el estatus de sospechoso (13,4%) y aún de negativos (4,1%), mientras que son positivos según el punto de corte alternativo.

Discusión y conclusiones. Si bien el búfalo pertenece a la familia *bovidae* igual que el bovino, son especies distintas y esto hace que el comportamiento de los sueros ante las técnicas diagnósticas pueda diferir. OIE recomienda estandarizar la técnica de FPA en cada especie y en cada región en la que se utilizará. En efecto, se han reportado diferentes puntos de corte para FPA en búfalos en Italia (117 mP) (Montagnaro *et al.*, 2008) y Brasil (104 mP) (Paulin *et al.*, 2012). En Argentina está reglamentado además el uso de puntos de corte diferentes del estandarizado para bovinos cuando se realiza FPA en caprinos, ovinos o porcinos (Manual de Procedimientos Brucelosis, SENASA, 2019). Esta situación indica la necesidad de ajustar el punto de corte a la especie bubalina, ante el riesgo de retener en los rodeos animales potencialmente infectados, que podrían ser fuente de infección tanto para otros búfalos como para los bovinos cohabitantes.

Bibliografía

- Martínez, D.E. (2012). Diagnóstico serológico y epidemiología molecular de brucelosis en búfalos y bovinos del nordeste argentino. Trabajo de tesis para optar al grado de Doctor en Cs. Veterinarias. UNNE, Corrientes, 141 pp.
- Martínez *et al.* (2021). Fluorescent polarization assay, two versions of indirect and competitive enzyme-linked immunoassay for brucellosis diagnosis in vaccinated buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Ciência Rural* 51 (11). DOI: 10.1590/0103-8478cr20200959.
- Montagnaro *et al.* (2008). Evaluation of a fluorescence polarization assay for the detection of serum antibodies to *Brucella abortus* in water buffalo (*Bubalus bubalis*). *Veterinary immunology and immunopathology* 125 (1-2), 135-142.
- Paulin, L.M.S. *et al.* (2012). Fluorescence polarization assay, competitive enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA-C) and indirect ELISA for the diagnosis of brucellosis in buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Ciência Rural*, Santa María 42 (9):1621-1626.
- Resoluciones SENASA 725/2005, 438/2006, 67/2019.

12-ASOCIACION ENTRE LA DENSIDAD OPTICA Y HALLAZGOS POST MORTEM COMPATIBLES CON TUBERCULOSIS EN BOVINOS POSITIVOS AL TEST DE ELISA

A. Sammarruco¹, F. Delgado¹, C. Garro¹, V. Bermejo Laudecina¹, I. De La Fuente¹, V. Ruiz Menna¹, S. Garbaccio¹
1: Instituto de Patobiología Veterinaria INTA-CONICET, CICVyA-INTA. sammarruco.romina@inta.gob.ar

Introducción. La tuberculosis bovina (TB) es una enfermedad infecto-contagiosa causada principalmente por *Mycobacterium bovis*. Genera un impacto económico negativo en la producción pecuaria y también en la salud pública, por tratarse de una zoonosis. La respuesta inmune a la infección es predominantemente mediada por células. En ello se fundamenta el diagnóstico a través de la prueba de tuberculina o intradermoreacción (IDR). Actualmente, Argentina cuenta con un plan nacional de control y erradicación (1), basado en el diagnóstico a través de la IDR. Sin embargo, existen evidencias de bovinos no reactores a la IDR que presentan lesiones compatibles con TB, siendo diagnosticados por medio del test serológico ELISA (2). En este sentido, se ha descrito que la respuesta mediada por anticuerpos resulta evidente en estadios avanzados de la enfermedad, asociada a cuadros patológicos severos. El objetivo de este trabajo, fue evaluar la asociación entre la densidad óptica (DO) obtenida por ELISA y la presencia de lesiones compatibles con TB (LCTB).

Materiales y métodos. Fueron seleccionados 14 establecimientos lecheros en base a sus antecedentes de TB (endémicos), pertenecientes a las provincias de Córdoba, Entre Ríos y Buenos Aires. Se analizó un total de 12.463 bovinos negativos a IDR en un lapso de tiempo desde junio de 2019 a enero de 2020, a través de un test ELISA previamente descrito (2). Para ello se colectó suero de bovinos adultos, entre 15 y 25 días post IDR, para aprovechar el efecto *booster* (3). Posteriormente, se seleccionó un grupo de 32 bovinos IDR negativo-ELISA positivo (~2 animales por establecimiento), se aplicó protocolo eutánico y se efectuó la necropsia; evaluando presencia de LCTB y colectando muestras para realizar estudios histopatológicos. Los órganos inspeccionados y colectados fueron linfonodos (retrofaringeos, mediastínicos, traqueobronquial, hepático, mesentérico y retromamario), pulmón, hígado, glándula mamaria e íleon. A su vez, se colectaron muestras de todo órgano que presentase LCTB. Las lesiones macroscópicas presentes fueron categorizadas siguiendo un criterio sugerido previamente, teniendo en cuenta factores tales como; presencia, tamaño y distribución de las mismas (4). La asociación entre los resultados obtenidos en el ELISA (DO) y la puntuación de lesiones se evaluó a través de la correlación de Spearman.

Resultados. Del total de animales analizados a través del ELISA, 50 fueron considerados positivos (0,4%) y 79 (0,6%) sospechosos, con un rango variable de DO que osciló entre 0,26 y 1,80. En 32 de ellos se realizó la necropsia (27 ELISA positivos y 5 sospechosos). Todos los animales presentaron LCTB. La puntuación otorgada a las lesiones observadas fue en promedio de 42 (rango 12 a 85; CV = 62%). En 26 de ellos (81%), se observaron lesiones multiorgánicas (≥ 2 órganos afectados). La histopatología confirmó LCTB en todos los casos. La correlación entre las DO y las lesiones fue 0,2581 (P -value 0,1529).

Discusión. La proporción general de animales negativos a la IDR que resultaron positivos o sospechosos al ELISA fue baja ~1% (rango 0,14 a 1,90). Sin embargo, todos los animales estudiados manifestaron presencia de LCTB, lo que sugiere que esta técnica podría estar identificando potenciales reservorios de la infección en el rodeo que no estarían siendo detectados por la IDR. Esto se encuentra en consonancia con estudios previos (2,3), donde se ha registrado un incremento en la patología tuberculosa relacionado a una disminución en la respuesta inmune mediada por células (IDR) y al comienzo de

la respuesta mediada por anticuerpos. La presencia de lesiones y su clasificación fue muy heterogénea, lo cual sugiere que en animales ELISA positivos se pueden observar un amplio rango de lesiones. En este estudio, no se observó una asociación entre los valores de DO obtenidos en el ELISA y el desarrollo de lesiones macroscópicas. Esto podría sugerir que los bovinos con altos valores de DO en el ELISA no necesariamente transiten un cuadro avanzado de TB y, por tanto, representen un mayor riesgo epidemiológico para el rodeo. La detección de anticuerpos no se utiliza de rutina como diagnóstico de TB, aunque los resultados obtenidos sugieren que sería de gran utilidad como complemento de la IDR. Futuros estudios serán necesarios para profundizar el conocimiento sobre la inmunopatogenia de esta enfermedad y el uso del ELISA para su diagnóstico.

Bibliografía

- Secretaría de Agricultura, Dirección de Sanidad Animal, Argentina (2012). "Plan Nacional de Control y Erradicación de la Tuberculosis Bovina," Res. 128/2012 SENASA/SAGPyA.
1- Garbaccio, S.G., Garro, C.J., Delgado, F., Tejada, G.A., Eirin, M.E., Huertas, P.S., León, L.A., Zumárraga, M.J. (2019). Enzyme-linked immunosorbent assay as complement of intradermal skin test for the detection of *Mycobacterium bovis* infection in cattle. *Tuberculosis (Edinb)*. 117, pág.: 56-61.
2- Casal, C., Díez-Guerrier, A., Alvarez, J., Rodríguez-Campos, S., Mateos, A., Linscott, R., Martel, E., Lawrence, J.C., Whelan, C., Clarke, J., O'Brien, A., Domínguez, L., Aranaz, A. (2014). Strategic use of serology for the diagnosis of bovine tuberculosis after intradermal skin testing. *Veterinary Microbiology*. 170: 342–351.
3- Garbaccio, S.G., Macías, A., Shimizu, E., Paolicchi, F., Pezzone, N., Magnano, G., Zapata, L., Abdala, A., Tarabla, H., Peyru, M., Caimi, K., Zumárraga, M., Canal, A., Cataldi, A. (2014). Association between spoligotype-VNTR types and virulence of *Mycobacterium bovis* in cattle. *Virulence*. Jan 7;5(2).

I3-CONCORDANCIA ENTRE HEMAGLUTINACIÓN INDIRECTA E INMUNOFLOURESCENCIA INDIRECTA PARA EL DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO DE *Toxoplasma gondii* EN CABRAS EN SALTA, ARGENTINA

Mazzuca AJ, Sarmiento R, Pintos L, Rojas C, Gutiérrez D, Fernández C, Sánchez Negrette, O. Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias Universidad Católica de Salta. amazzuca@ucasal.edu.ar

Introducción. La toxoplasmosis es una zoonosis causada por *Toxoplasma gondii*, un parásito intracelular capaz de infectar a las células de humanos, mamíferos y aves. La emaglutinación Indirecta (HAI) y la Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) son técnicas utilizadas para diagnosticar esta patología que provoca grandes pérdidas económicas a los productores de cabras. Los objetivos fueron comparar y establecer si existe concordancia entre las técnicas HAI e IFI para la cuantificación de Títulos de anticuerpos IgG anti-*Toxoplasma gondii*; y proponer una tabla de equivalencias de los Títulos determinados por ambas técnicas.

Materiales y métodos. Estudio descriptivo transversal en 100 sueros caprinos. Se realizó el Toxotest HAI-Wiener, que utiliza eritrocitos de camero sensibilizados con antígenos citoplasmáticos y de superficie de *T. gondii*. Las muestras se diluyeron de 1:4 a 1:2048 con PBS, y se consideró como positivo al Título $\geq$ 16. Para IFI: Improntas con antígeno adsorbido de *T gondii*, provistas por la UNLP y conjugado anti-IgG caprino marcado con isotiocianato de fluoresceína (Sigma-Aldrich). Se diluyeron las muestras de 1:25 a 1:12800, considerándose como positivo al Título $\geq$ 100. Se siguió el procedimiento indicado por Unzaga (2014) Los datos fueron cargados en planillas Excel y pasados a Epidat 4.2 en el que calculó el Índice Kappa de Cohen(K) para determinar el grado de concordancia entre los resultados obtenidos por ambas técnicas (HAI e IFI), considerando la graduación de concordancia de la siguiente manera: Si $0.81 < K < 1$, el grado de concordancia es excelente; si es $0.61 < K < 0.8$ el grado de concordancia es bueno; si es $0.41 < K < 0.6$ es moderado; si es $0.21 < K < 0.4$ es regular y si $0 < K < 0.2$ el grado de concordancia es pobre.

Resultados. El grado de concordancia entre las pruebas de HAI y de IFI mediante el índice de Kappa fue de 0,534 (IC95%: 0,368 – 0,701 y $p < 0,05$). En la Tabla N°1 se observan el número de muestras cuyos resultados son concordantes entre IFI y HAI. Se establecieron 9 niveles (categorías) de positividad con los títulos respectivos para cada técnica para poder estratificar resultados similares. Al comparar los resultados obtenidos, por Título en cada Técnica, se determinó que el índice Kappa de concordancia fue del 0.363 (IC95% 0.194 – 0.532 y $p < 0,05$).

Discusión y conclusión. Se determinó una moderada concordancia entre las muestras positivas y negativas de toxoplasmosis determinadas por HAI e IFI ($\kappa = 0,534$), pero al estratificar los Títulos en los 9 niveles de positividad para establecer equivalencias entre las técnicas de diagnóstico, se evidenció que la concordancia entre ellas es regular ($\kappa = 0.363$)

Este grado de concordancia regular también puede deberse a la diferencia de antígenos utilizados en cada prueba, dado que presentan determinantes antigénicos diferentes, como así también a la brecha de valor de corte entre HAI (Título=16) e IFI (Título=100)

Bibliografía

- Basso, W. & Venturini, M.C. (2009). La Toxoplasmosis en los Animales Domésticos y Silvestres criados en Cautiverio: Aspectos Epidemiológicos y Diagnóstico. Revista Veterinaria Argentina, Temas de Zoonosis IV. Ed. Asociación Argentina de Zoonosis.
- Feinstein, A.R. & Cicchetti, D.V. (1990). High agreement but low Kappa: I. the problems of two paradoxes. Journal of Clinical Epidemiology, 43(6), 543-549.
- Gribaudo, L., Saretti, L., Gallego, F. & Miguez, V. (2017). Comparacion-entre-metodologias-para-la-deteccion.pdf.
- Huerta, O.S., Chávez, V.A., Casas, A.E., Falcón, P.N. & Raymundo, T.F. (2012). Concordancia entre las pruebas de Hemaglutinación indirecta e Inmunofluorescencia indirecta para determinar la prevalencia de *Toxoplasma gondii* en ovinos. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, 17(2).
- Unzaga, J.M., Moré, G., Bacigalupe, D., Rambeaud, M., Pardini, L., Dellarupe, A., Venturini, M.C. (2014). *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in goat abortions from Argentina-Parasitology International, 63: 865–867.

Tabla N°1.

Comparación de las técnicas HAI e IFI para el diagnóstico de infección por *T. gondii* en cabras. Casos positivos y negativos ($\kappa = 0.534$) y estratificación por Títulos ($\kappa = 0.363$)

		Título Ac anti <i>T gondii</i> IFI									Total general
		Negativo	100	200	400	800	1600	3200	6400	12800	
Título Ac anti <i>T gondii</i> HAI	Negativo	44	9	2							55
	16	6	4	1	1						12
	32	5	1	2	2						10
	64	1				1	3				5
	128	1		1		1	2				5
	256			1			1	3			5
	512						1		2		3
	1024								2	2	4
	2048									1	1
Total general		57	14	7	3	2	7	3	4	3	100

14-SEROPREVALENCIA A *Neosporacanium* EN VALLES CENTRALES Y CALCHAQUÍES DE LA PROVINCIA DE SALTA, ARGENTINA

Mazzuca AJ, Sarmiento R, Pintos L, Rojas C, Gutiérrez D, Fernández C, Sánchez Negrette, O. Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias Universidad Católica de Salta. amazzuca@ucasal.edu.ar

Introducción. La neosporosis es una enfermedad causada por *Neosporacanium*, un parásito intracelular obligado, capaz de causar pérdidas reproductivas y económicas en el ganado. Para que cumpla su ciclo completo precisa del perro (hospedador definitivo) La ingestión de carne poco cocida, infectada con quistes tisulares, o el consumo de alimentos y agua contaminados con ooquistes son vías de infestación. En la provincia de Salta, existen escasos registros de la situación epidemiológica de esta parasitosis en el ganado caprino. La neosporosis reporta altos índices de morbilidad, lo cual ha motivado a muchos investigadores a realizar estudios inmunológicos encaminados hacia el diagnóstico temprano mediante el desarrollo de técnicas basadas en la determinación de anticuerpos específicos contra *N. caninum*.

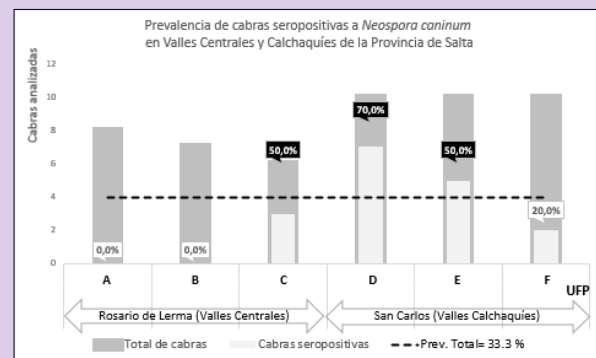
Objetivo. Determinar la seroprevalencia de *Neosporacanium* en cabras en los Valles Centrales y Calchaquíes de la provincia de Salta.

Materiales y métodos. Se muestrearon 30 cabras provenientes de 3 Unidades Familiares Productoras (UFP) del departamento de San Carlos, en los Valles Calchaquíes, y 21 cabras provenientes de 3 UFP del departamento de Rosario de

Resultados. El 33,3% (17/51) de las muestras de cabras presentó anticuerpos anti *N. caninum*. En el gráfico se muestra la cantidad de cabras analizadas de los 6 rodeos de las UFP (A,B,C,D,E y F), con sus respectivas prevalencias a *N.caninum*. La mitad de los rodeos supera la prevalencia media del 33,3%. Se encuentra diferencia estadística significativa ($p=0,0158$) con respecto al lugar en el que viven las cabras; siendo la prevalencia a *N. caninum* menor en los Valles Centrales 14,3% (3/21) al compararla con la de los rodeos de los Valles Calchaquíes 46,7% (14/30). Es 5,25 veces más probable de hallar anticuerpos anti *N. caninum* en los sueros de las cabras provenientes de los Valles Calchaquíes que en las cabras de los Valles Centrales ($OR=5,25$; $95\%IC= 1,23$ a $21,65$).

Discusión y conclusión. Los rodeos en ambas regiones tienen condiciones de manejo semiintensivo, Si bien los animales están confinados en corrales que mantienen una situación propicia para la supervivencia de los ooquistes, también tienen la oportunidad de alimentarse libremente en las zonas cercanas a los corrales: La mayor exposición de los animales al parásito en los Valles Calchaquíes podría ser consecuencia del manejo de los animales caprinos y caninos

Lerma, en los Valles Centrales. Los 51 sueros fueron analizados por Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) para anticuerpos IgG- anti-*N. caninum*, siguiendo el procedimiento de Unzaga (2014), los sueros fueron diluidos con PBS a partir de 1:25 en microplacas. Se sembró 10 μ l de la dilución 1:100 de cada suero en un pocillo del portaobjeto, empleando 1 control positivo y 1 control negativo, por cada portaobjetos (controles LAINPA-Univ. Nac. La Plata); se incubó a 37 °C durante 30 minutos en cámara húmeda; se lavó 3 veces con buffer de carbonatos, en agitador. Se agregó 10 μ l de conjugado anti IgG-caprino marcado con isotiocianato de fluoresceína (Sigma, Aldrich), diluido en 1:100 en PBS; se incubó a 37°C por 30 minutos, en cámara húmeda, con 3 lavados posteriores con Buffer carbonatos, en agitador. Finalmente, se hizo el montaje de los cubreobjetos con buffer glicerinado. La lectura se realizó en el microscopio de IF Arcano. La presencia de fluorescencia completa periférica de los taquizoítos se consideró como una reacción positiva (Paré,1995 y Romero,1995). Análisis de los datos: Se utilizaron Excel e Epidat 4.2. La presencia de anticuerpos anti *N.caninum* y su asociación con el lugar de procedencia de las cabras fueron analizadas por Chi-cuadrado (χ^2) y por la Razón de Probabilidades (O.R).



Bibliografía

- Gos, M.L., Manazza, J.A., Späth, E., Pardini, L., Fiorentino, M.A., Unzaga, J.M., Venturini, M.C. (2014a). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in goats from two Argentinean provinces. *Open Veterinary Journal*, 7(4), 319-322.
- Moré, G., Basso, W., Bacigalupe, D., Venturini, M.C. & Venturini, L. (2008). Diagnosis of *Sarcocystis*, *Neospora caninum*, and *Toxoplasma gondii* infections in cattle. *Parasitology Research*, 102(4), 671-675.
- Unzaga, J.M., Moré, G., Bacigalupe, D., Rambeaud, M., Pardini, L., Dellarupe, A., Venturini, M.C. (2014). *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in goat abortions from Argentina-*Parasitology International*, 63: 865-867.

15-COMPARACIÓN ENTRE UN ELISA ESPECÍFICO DE *LEPTOSPIRA* SPP Y LA PRUEBA MAT PARA MONITOREAR LA RESPUESTA DE ANTICUERPOS VACUNALES EN BOVINOS

M. Martínez¹, G. Romero¹, C. Sánchez¹, F. Ortega¹, V. Saraullo¹, O. Watanabe¹, M. Hamer¹, S. Grune¹, L. Samartino^{1,2} y B. Brihuega^{1,2}. martinez.mara@inta.gob.ar.

¹Instituto de Patobiología- UEDD IPVET INTA CONICET, Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias y Agronómicas, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Hurlingham, B1686, Argentina. ²Escuela de Veterinaria. Universidad del Salvador, Argentina.

Introducción. La leptospirosis es una enfermedad zoonótica y un grave problema económico para la producción bovina [1]. La vacunación está recomendada para disminuir las pérdidas económicas y la transmisión al humano. Nuestro objetivo fue comparar un ensayo inmunoenzimático (ELISA) específico de *Leptospira* spp con la prueba de aglutinación microscópica (MAT) para evaluar la respuesta de anticuerpos IgG de una vacuna comercial en bovinos.

Materiales y métodos. Diez bovinos hembra biotipo británico, de entre dos a siete años de edad, recibieron una vacuna comercial basada en preparaciones de células enteras de *Leptospira interrogans* (*L.i.*): Canicola, Icterohaemorrhagiae, Pomona y Sejroe. Los animales recibieron la primera dosis el día cero (D0) y el refuerzo el día 25 (D25). En los días D0, D25, D49, D76, D120 y D300 se les extrajo sangre y se les realizaron los ensayos de ELISA y MAT. El ensayo de ELISA se preparó de acuerdo a Martínez y col. [2]. El punto de corte (CO) se determinó a partir de la densidad óptica (DO) obtenida de los diez sueros MAT negativos antes de la vacunación [3]. La MAT se realizó según el manual de la OIE (OIE, 2019) [4]. Los antígenos utilizados fueron *L.i.* Pomona Pomona Pomona, *L.i.* Icterohaemorrhagiae Copenhageni M20, *L. borgpetersenii* (*L.b.*) Tarassovi Perepelcin; *L.i.* Canicola Hond Utrecht IV, *L.i.* Sejroe Wolffi 3705, *L.i.* Sejroe Hardjo Hardjoprajitno, *L. b.* Ballum Castellonis Castellon 3 y *L. kirschneri* Grippotyphosa Moskva V. La concordancia entre ambos métodos se evaluó utilizando el índice kappa (k) <https://epitools.ausvet.com.au/comparetwotests>

Resultados. El CO del ELISA resultó de una DO de 0,156. En el tiempo cero (D0), ningún animal presentó anticuerpos detectables mediante MAT (el 100% resultó $<1/100$) y la DO del ELISA a 450 nm fue $<0,156$ en todos los sueros bovinos ($k = 1$). En el D25, MAT detectó anticuerpos específicos en el 40% de los sueros bovinos mientras que el ELISA en el 90% ($k = 0,20$). Luego de la dosis de refuerzo (D49), el 50% de los sueros bovinos fueron positivos por MAT, mientras que el 100% resultaron positivos por ELISA. La concordancia global entre MAT y ELISA fue débil [$k = 0,0826$; IC del 95% (-0,0774-0,2426)]. La sensibilidad de cada técnica para detectar anticuerpos vacunales fue del 95% para el ELISA [IC 95% (76,39-99,11)] y 45% para MAT [IC 95% (25,82-65,79)].

Discusión y conclusión. Dado que no existe una técnica confiable para monitorear la respuesta inmune vacunal a *Leptospira* spp. en bovinos, evaluamos un nuevo IgG-ELISA [2] para la detección de anticuerpos específicos vacunales frente a múltiples serogrupos de *Leptospira* spp. Nuestros resultados son consistentes con trabajos previos que reportan baja sensibilidad de MAT para la detección de anticuerpos inducidos por vacunas [5]. Como resultado preliminar, el ELISA utilizado sería útil para evaluar la generación de anticuerpos IgG inducidos por la vacuna contra *Leptospira* spp, ya que mostró un mejor desempeño que la prueba MAT.

Bibliografía

- 1- Rocha, B.R., Narduche, L., Oliveira, C.S., Martins, G. and Lilenbaum, W. (2017) Molecular demonstration of intermittent shedding of *Leptospira* in cattle and sheep and its implications on control, *Ciência Rural*.
- 2- Martínez, M.L. *et al.* (2021) New enzyme-linked immunoassay for the detection of specific antibodies against multiple *Leptospira* serogroups in bovine sera, *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 75.
- 3- Bomfim, M.R.Q., Ko, A. and Koury, M.C. (2005) Evaluation of the recombinant LipL32 in enzyme-linked immunosorbent assay for the serodiagnosis of bovine leptospirosis, *Vet. Microbiol.*, vol. 109, no. 1–2, pp. 89–94.
- 4- OIE, Manual de las pruebas de diagnóstico y de las vacunas para los animales terrestres (mamíferos, aves y abejas) (2019).
- 5- Cariou, C. *et al.* (2020) Development of antibody ELISA specific of *Leptospira interrogans* serovar Grippotyphosa, Canicola, and Icterohaemorrhagiae to monitor vaccine immunogenicity, *Vet. Immunol. Immunopathol.*, vol. 219.

I6-DESARROLLO DE UN ELISA DE INHIBICIÓN COMPETITIVO PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA BRUCELOSIS EN BOVINOS, RESULTADOS PRELIMINARES

Novoa, M.B.¹, Aguirre, N.¹, Torioni de Echaide, S.¹, Valentini, B.¹ y Vanzini, V.¹

¹Instituto de Investigación de la Cadena Láctea (E.E.A. Rafaela INTA-CONICET). novoa.maria@inta.gob.ar

Introducción. La brucelosis es una enfermedad infecciosa zoonótica de relevancia mundial, causada por bacterias del género *Brucella* que provoca desórdenes reproductivos en animales. En bovinos es causada principalmente por *Brucella abortus*. En Argentina, la proporción de rodeos de cría y mixtos con brucelosis en la zona de mayor producción bovina es del 12,4%, mientras que para rodeos lecheros de la cuenca de Santa Fe se ha reportado el 2,2%. Las herramientas para el control de la enfermedad se basan en la vacunación, detección y segregación de animales infectados. Las técnicas de diagnóstico serológico oficiales incluyen como tamiz la prueba del antígeno tamponado en placa (BPA) en muestras de suero sanguíneo y la de ELISA indirecto en muestras de leche. Las pruebas de seroaglutinación en tubo (SAT) y 2-mercaptoetanol (2-ME) en paralelo, polarización fluorescente (FPA) y ELISA de inhibición competitiva (ELISAC) se utilizan como pruebas confirmatorias y la fijación del complemento (FC) como prueba de referencia, todas en muestras de suero sanguíneo. En Argentina se dispone de un ELISAC validado para la detección de anticuerpos anti-*B. abortus*, basado en reactivos importados que no se consiguen comercialmente. El objetivo de este trabajo fue validar un ELISAC para detección de anticuerpos anti-*B. abortus* en muestras de suero sanguíneo basado en reactivos producidos en la EEA Rafaela-INTA (ELISAC_{RAFAELA}).

Materiales y métodos. El antígeno lipopolisacárido liso (sLPS) de *B. abortus* cepa 1119-3 y el anticuerpo monoclonal (AcM) anti-sLPS (AcM D7) se produjeron previamente en la EEA Rafaela-INTA. El ELISAC_{RAFAELA} utiliza como antígeno al sLPS inmovilizado en una placa de poliestireno. Los sueros problema y controles se agregaron en una dilución 1/10 en buffer PBS + EDTA/EGTA 0,075 M. Luego se añadió el AcM D7 en una dilución 1/1000 en buffer PBS + EDTA/EGTA 0,075M, seguido de un anticuerpo anti-IgG de ratón conjugado con peroxidasa en una dilución 1/3000 en PBS + 0,05% tween-20. Se utilizó ABTS como sustrato cromógeno. En cada paso se realizó una incubación de 30 minutos a 25 °C y luego 3 lavados con buffer PBS + 0,05% tween-20. Cada placa de ELISA incluyó sueros control positivo fuerte (C++), débil (C+), negativo (C-) y un control de conjugado (Cc) sin suero. Se realizó una lectura dinámica estandarizada para cuando el Cc alcanzara una DO=1 ($\pm 20\%$) a los 10 minutos ($\pm 20\%$) de agregado el ABTS. Los resultados se expresaron en porcentaje de inhibición (%I) respecto al control de conjugado, según la siguiente fórmula: $\%I = 100 - (DO_{\text{muestra}} \times 100) / DO_{\text{Cc}}$. Para evaluar el ELISAC_{RAFAELA} desarrollado, se utilizaron muestras de suero sanguíneo de 458 bovinos. Las muestras de suero sanguíneo negativas se obtuvieron de vacas (n = 299) mayores a 3 años de edad vacunadas con la vacuna de *B. abortus* C19 entre los 3 y 8 meses de edad, pertenecientes a un establecimiento lechero libre de brucelosis en los últimos 10 años. Las muestras de sangre positivas se obtuvieron de vacas infectadas (n = 159) de otro establecimiento lechero con antecedentes de brucelosis (presencia de abortos y aislamiento bacteriológico). Todas las muestras de suero fueron analizadas por duplicado mediante ELISAC_{RAFAELA} y FC. Los resultados obtenidos por ELISAC_{RAFAELA} se analizaron a través de una curva ROC utilizando el programa Medcalc. Se determinó el área bajo la curva (ABC), el punto de corte óptimo (PC) y la sensibilidad (Se) y especificidad (Es) relativas a la FC con un 95% de confianza. Se evaluó la

concordancia y el índice kappa (κ) entre el ELISAC_{RAFAELA} y la FC.

Resultados. El ELISAC_{RAFAELA} mostró un ABC = 0,999 (95% IC = 0,991 – 1,000). El PC fue $\geq 40\%$ I con una Se de 99,4% (95% CI = 96,4–100,0) y una Es de 100,0% (95% IC = 98,9– 100,0), relativas a la FC. La concordancia entre ELISAC_{RAFAELA} y la FC fue de 100,0 % con $\kappa = 1,00$.

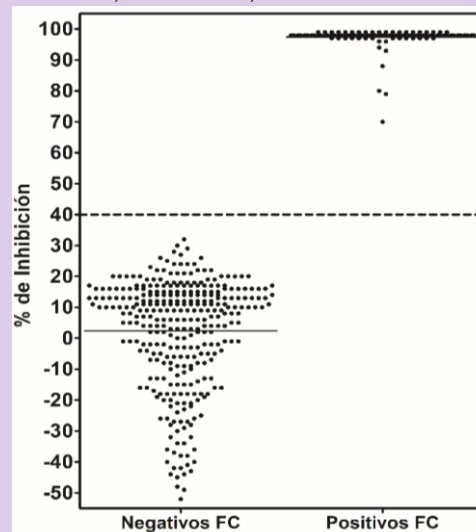


Figura 1: Distribución de los %I obtenidos por ELISAC_{RAFAELA} con un punto de corte $\geq 40\%$ I en muestras de suero positivas y negativas a FC.

Discusión y conclusiones. En este ensayo preliminar el ELISAC_{RAFAELA}, basado en reactivos producidos en la EEA Rafaela-INTA, mostró un alto rendimiento respecto de la FC. El ELISAC es una prueba objetiva, rápida, automatizable y que permite procesar gran número de muestras por día y por operador. El espectrofotómetro utilizado para su lectura puede ser amortizado utilizándolo para diagnóstico serológico de otras enfermedades. Se necesita una evaluación y validación exhaustiva de la prueba para confirmar estos resultados, ya que podría ser de gran utilidad como prueba confirmatoria para la detección de anticuerpos anti- *B. abortus* en rodeos bovinos, reemplazando a la prueba de ELISAC disponible, basada en reactivos importados.

Bibliografía

- Corbel, M.J. (1989). Brucellosis : epidemiology and prevalence worldwide, en: *añadió : Clinical and Laboratory Aspects*. CRC, Boca Ratón FL, pp. 25–40.
- Vanzini, V. y col. (2015). *Reseña epidemiológica de la brucelosis bovina en la provincia de Santa Fe*. <https://inta.gob.ar/documentos/resena-epidemiologica-de-la-brucelosis-bovina-en-la-provincia-de-santa-fe>
- SENASA (2014). Informe del muestreo para determinación de prevalencias de brucelosis bovina en la zona de mayor producción bovina en la república argentina.
- SENASA, Resolución 67/2019. Plan Nacional de Control y Erradicación de Brucelosis Bovina en la REPÚBLICA ARGENTINA. Samartino L, Gall D, Gregoret R, Nielsen K. Validation of enzyme-linked immunosorbent assays for the diagnosis of bovine brucellosis. *Vet Microbiol*. 1999 Dec;70(3-4):193-200.

I7-EXPERIENCIA A CAMPO DE VARIACIONES EN LA RESPUESTA CELULAR Y HUMORAL EN TUBERCULOSIS BOVINA

M Maci¹, F Martino², C Martino², F Tonini², G Magnano¹, E Sticotti¹, A Macias¹, M Schneider¹, K Montechiari³, N Griffa⁴.

1Departamento de Patología Animal, Facultad de Agronomía y Veterinaria, UNRC, Río Cuarto, Córdoba, Argentina. 2 Estudio Veterinario AVIS, Suardi, Santa Fe. 3 Bióloga, Monte Maíz, Córdoba. 4 Laboratorio de Diagnóstico Veterinario, Colonia Belgrano, Santa Fe.

mmacio@ayv.unrc.edu.ar

Introducción. La tuberculosis bovina es una enfermedad crónica provocada por *Mycobacterium bovis*. Observaciones a campo y experimentales, demuestran un amplio espectro de la respuesta inmune en bovinos infectados. Se considera que inicialmente predomina la respuesta celular y a medida que la enfermedad progresa, se hace más evidente la respuesta humoral por anticuerpos. Bajo determinadas circunstancias, en casos de tuberculosis muy avanzada y posiblemente diseminada, el ganado puede volverse anérgico, condición durante la cual los animales no tienen respuesta inmune celular detectable pero pueden tener altos niveles de anticuerpos circulantes. La reglamentación nacional vigente indica que todo animal positivo a la Intradermoreacción (IDR) en rodeos infectados, debe enviarse con destino a faena. Son numerosas las consultas que realizan los colegas sobre los resultados que se obtienen al repetir la IDR y las posibles modificaciones de las respuestas inmune celular y humoral con el avance de la enfermedad; con este estudio se buscó fortalecer dichas inquietudes. El objetivo de este trabajo es "Evaluar los resultados de repeticiones periódicas de pruebas que miden inmunidad celular y humoral, en un establecimiento bovino con antecedentes de tuberculosis".

Materiales y métodos. El trabajo se desarrolló en un rodeo bovino lechero que contaba con antecedentes de tuberculosis confirmados por lesiones compatibles y aislamientos de *M. bovis*. Se realizó inicialmente el diagnóstico por IDR, con 0.1 ml de PPD bovino a todos los animales adultos, aproximadamente 500 vacas; las que resultaron negativas fueron evaluadas con una técnica de ELISA desarrollada por Griffa N. (2020). La extracción de sangre para esta prueba se realizó a los 14 días posteriores a la inoculación con PPD bovino, momento coincidente con la estimulación máxima de la respuesta inmune humoral que describen varios autores. Todos los animales positivos a las técnicas fueron trasladados a un campo sanitario donde se realizó el presente ensayo. Quedaron así conformados dos grupos según ingresaron por ser positivas a IDR (n: 79) o a ELISA (n: 40). A partir de este momento, se repitieron ambas pruebas diagnósticas en 4 oportunidades (1ra, 2da, 3ra, 4ta) durante un período de 10 meses (aproximadamente 3 meses entre ellas). Se analizaron las repeticiones de cada animal en cada grupo evaluando si las respuestas celular y humoral mantenían un comportamiento esperado o errático en el tiempo según la enfermedad va progresando. Considerando las curvas inmunitarias, lo esperado para la IDR fue que los animales mantengan su positividad o decaigan con el tiempo pero no vuelvan a dar positivos en otras repeticiones; y los ingresados por ELISA se mantengan positivos en el tiempo (Figura 1).

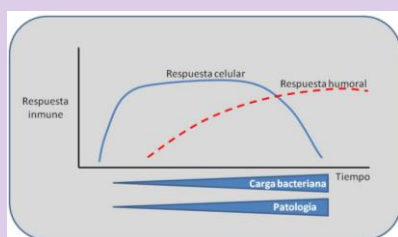


Figura 1

Resultados

IDR (respuesta celular) n=79				
1ra	2da	3ra	4ta	total
P	P	P	P	16 (20%)
P	P	P	N	4 (5%)
P	P	N	N	5 (6%)
P	N	N	N	6 (8%)
N	N	N	N	18 (23%)
Errático (intercalando P y N)				30 (38%)

ELISA (respuesta humoral) n=40				
1ra	2da	3ra	4ta	total
P	P	P	P	16 (40%)
P	P	P	N	10 (25%)
P	P	N	N	7 (17.5%)
P	N	N	N	4 (10%)
N	N	N	N	1 (2.5 %)
Erráticos (intercalando P y N)				2(5%)

Discusión y conclusiones

Con respecto a la IDR que mide respuesta celular se puede indicar que: *16 (20%) animales repitieron IDR positiva a lo largo de los 10 meses de estudio. Estos resultados estarían indicando que en un alto porcentaje de animales (80%) se presentan variaciones detectables de la respuesta inmune celular. *33 animales (42%) se fueron negativizando en sucesivos muestreos, lo que podría indicar que la respuesta celular fue disminuyendo; 18 (23%) de estos no volvieron a ser positivos luego del primer diagnóstico, siendo esta situación preocupante por la posibilidad de mantener la enfermedad sin ser detectados. Estos resultados resaltan la importancia de una periodicidad más corta de realizar la IDR en campos problemas ya que animales infectados pueden dar IDR negativa con el paso del tiempo. *Finalmente, hubo 30 animales (38%) que tuvieron comportamiento errático en las repeticiones, intercalando resultados positivos y negativos. Resaltando con ello variaciones en la respuesta inmune celular. Con respecto a las repeticiones en el grupo de ELISA: *16 (40%) mantuvieron títulos detectables por la técnica en los 10 meses y 22(55%) se fueron negativizando durante ese período. Solamente 2 animales (5%) tuvieron comportamiento errático. Esto podría estar evidenciando una caída de la respuesta humoral con el avance de la enfermedad. La cantidad de animales que no pueden volver a ser clasificados como positivos en sucesivas IDR; los que no muestran a través de técnicas de campo un comportamiento esperable acorde a lo que sabemos sobre la evolución de la respuesta inmune; la posible tendencia a la caída de la inmunidad humoral con el avance de la enfermedad, y el concepto de latencia (no estudiado en este trabajo), pueden ser factores que contribuyan a comprender las dificultades que se plantean en el saneamiento de rodeos que presentan medias y altas prevalencias durante varios años, aún combinando técnicas diagnósticas. Son necesarios más estudios que indaguen en la dinámica de la enfermedad en rodeos en saneamiento.

Bibliografía

- Pollock, J. and Neill, S. (2002). *Mycobacterium bovis* Infection and Tuberculosis in Cattle The Veterinary Journal, 163,115-127.
- Griffa, N. et al. (2020). Development and diagnostic validation of an ELISA based on an antigenic mixture for the detection of bovine tuberculosis. The Veterinary Journal, 256.

18-RESPUESTA INMUNE FRENTE A ANTÍGENOS RECOMBINANTES EN BOVINOS EXPERIMENTALMENTE INFECTADOS CON MICOBACTERIAS AMBIENTALES

Bresky, F.^{1,2}; Fiorentino, M.A.^{1,2}; Morsella, C.²; Méndez, L.²; Vasini Rosell, B.³; Eirin, M.E.^{3,5}; Zumárraga, M.^{3,5}; Paolicchi, F.A.^{1,2}

¹Universidad Nacional de Mar del Plata, Facultad de Cs. Agrarias Balcarce, Bs. As., Argentina. ²Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria INTA EEA Balcarce, Bs. As., Argentina. ³CONICET, Bs. As., Argentina. ⁵ Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular (IABIMO) UEDD INTA-CONICET, Hurlingham, Bs. As., Argentina.
bresky.florencia@inta.gob.ar

Introducción. La prueba oficial de diagnóstico para la tuberculosis bovina (TB) es la intradermorreacción, la cual consiste en la inoculación intradérmica de un derivado proteico purificado de la cepa de *Mycobacterium bovis* AN5 (PPDb) y en la posterior medición de la reacción de hipersensibilidad retardada producida luego de las 72 h de su inoculación. Existe otra prueba, el ensayo de gamma interferón (γ IFN), que permite identificar animales sensibilizados luego de la estimulación de linfocitos con PPDb o antígenos específicos de *M. bovis*. El PPDb es una mezcla compleja, principalmente de proteínas y lípidos que puede inducir reactividad cruzada con proteínas codificadas en el genoma de micobacterias ambientales (MA). Así, los animales no infectados con *M. bovis* que se encuentren sensibilizados por una exposición previa a las MA también podrían reaccionar al PPDb, dando como resultado un diagnóstico falso positivo. El uso de proteínas ausentes en la mayoría de las MA en las pruebas de diagnóstico mejoraría la especificidad en la detección de *M. bovis*. El objetivo del trabajo consistió en evaluar la respuesta inmune mediada por células utilizando antígenos específicos para el diagnóstico de *M. bovis*, en bovinos desafiados experimentalmente con tres especies de MA.

Materiales y métodos. Para el desafío se utilizaron tres cepas de MA: *Mycobacterium phlei*, *Mycobacterium porcinum* y *Mycobacterium fortuitum*. Las dos primeras se aislaron de carcasas bovinas con lesiones detectadas en frigorífico¹ y la última de una muestra de leche de tanque de enfriado de tambo². La caracterización molecular de los aislamientos se realizó mediante la secuenciación del gen que codifica la subunidad ribosomal 16S. Para el ensayo experimental se seleccionaron 20 terneros Aberdeen Angus, de 3 a 4 meses de edad, negativos a TB y Paratuberculosis, los cuales fueron divididos en 4 grupos. El G1 (n=5) se infectó con *M. phlei*, el G2 (n=5) con *M. porcinum*, el G3 (n=5) con *M. fortuitum* y el G4 (n=5) grupo control sin infectar (inoculado con PBS 1X estéril). La infección experimental se realizó por vía oral, con 1×10^{10} UFC de cada cepa en dos tiempos con un intervalo de 7 días. Se tomaron muestras de sangre heparinizada por punción yugular de todos los animales el día de la inoculación (día 0) y cada 14 días hasta los 3 meses del comienzo del ensayo. La determinación de γ IFN se realizó con un kit comercial (D screen® ruminant IFN- γ , IDVet, Francia) siguiendo las instrucciones del fabricante. La estimulación de la sangre se realizó con el PPDb y PPD aviar (PPDa) (4 μ g/mL) provistos por el Kit y con antígenos recombinantes: Mb2845c³ y ESAT6-CFP10 (10 μ g/mL) (Lionex, GmbH, Alemania). Se realizó la lectura de a 450 nm en un lector de ELISA (Thermo Labsystems®; Model 352), en términos de densidad óptica (DO). El análisis estadístico se llevó a cabo mediante un modelo lineal mixto, con mediciones repetidas en el tiempo (SAS/STAT® 9.2). El ensayo experimental fue aprobado por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Experimentación –INTA/CeRBAS (Resolución 072/2016).

Resultados. En todos los grupos inoculados se observó respuesta inmune detectable frente a los antígenos estudiados,

siendo significativa ($p < 0.05$) frente al PPDb en el grupo control no desafiado en comparación con los tres grupos de animales inoculados. Frente a PPDa el grupo control difirió estadísticamente ($p < 0.05$) de los grupos G1 y G2, pero no así del G3. La respuesta de los terneros del G2 frente a los PPDb y PPDa y a los antígenos recombinantes fue significativamente superior ($p < 0.05$) respecto de la observada en los otros grupos durante todo el ensayo, con excepción de la semana 6 pos infección en la que se observó que la respuesta del grupo G1 al PPDb fue levemente mayor. El patrón de respuesta del G1 y G3 fue similar para todos los antígenos, observándose un aumento en la reactividad en la semana 6 y 8 post infección, que luego decreció hasta la semana 12. La magnitud de la respuesta observada frente a ESAT6-CFP10 fue menor que la observada para los PPDs y similar a la respuesta por parte del antígeno Mb2845c, con excepción de un pico en la semana 12 en el grupo inoculado con *M. porcinum*. El antígeno Mb2845c mantuvo niveles bajos de reactividad en todos los grupos inoculados hasta el final del ensayo.

Discusión y conclusión. La sensibilización de bovinos con MA provocó una respuesta inespecífica detectable mediante la prueba de γ IFN frente a los PPDb y PPDa, lo cual coincide con lo observado por Waters⁴ en un estudio realizado con terneros inoculados con *M. kansasii*. Esto sugiere que la respuesta inmune del huésped a diferentes MA puede afectar la interpretación de los resultados obtenidos durante el ensayo de γ IFN. Por este motivo, la caracterización de antígenos específicos de *M. bovis* que puedan complementar de forma eficiente al PPDb es necesaria. En concordancia con lo observado por Eirin³, el antígeno Mb2845c fue el que mejor discriminó la respuesta inmune por parte de los animales inoculados con las MA. Son escasos los trabajos realizados en bovinos relacionados con esta temática en Argentina. Este es el primer trabajo realizado en nuestro país, donde se evaluó la respuesta inmune mediada por células frente a antígenos específicos en bovinos infectados experimentalmente con MA aisladas a partir de bovinos.

Bibliografía

- 1- Traversa, M.J. y col. (2011). Report of mycobacteria isolated from domestic and wildlife species during 2004-2008. *Analecta Vet.* 31 (1): 10-14.
- 2- Cirone, K. y col. (2012). Aislamiento de *Mycobacterium porcinum* a partir de muestras de leche bovina de tanque de enfriado. XIX Reunión Científico Técnica de la AAVLD. Bs As, Argentina.
- 3- Eirin, M.E. y col. (2015). Identification and evaluation of new *Mycobacterium bovis* antigens in the in vitro interferon gamma release assay for bovine tuberculosis diagnosis. *Tuberculosis.* 1-7.
- 4- Waters, W.R. y col. (2006). Immune Responses to Defined Antigens of *Mycobacterium bovis* in Cattle Experimentally Infected with *Mycobacterium kansasii*. *Clin. Vaccine Immunol.* 13 (6): 611-619.

19-DESCRIPCIÓN DE LA EVOLUCIÓN DE TUBERCULOSIS EN RODEOS LECHEROS COMBINANDO EL USO DE IDR Y ELISA

A. Sammarruco¹, C. Garro¹, F. Delgado¹, V. Bermejo Laudecina¹, I. De La Fuente¹, V. Ruiz Menna¹, S. Garbaccio¹

1: Instituto de Patobiología Veterinaria INTA-CONICET, CICVyA-INTA. sammarruco.romina@inta.gob.ar

Introducción. La tuberculosis bovina (TB) produce un impacto negativo en la producción pecuaria y la salud pública. La respuesta inmune a la infección es predominantemente mediada por células. En ello se fundamenta el diagnóstico a través de la prueba tuberculina o intradermorreacción (IDR). Actualmente, Argentina cuenta con un plan nacional de control y erradicación (1), basado en el diagnóstico a través de la IDR. Sin embargo, existen evidencias de bovinos no reactivos a la IDR que presentan lesiones compatibles con TB, siendo identificados por medio del test serológico ELISA (2). En este sentido, se ha descrito que la respuesta mediada por anticuerpos resulta capaz de detectar animales infectados. Diversos estudios proponen el uso complementario IDR seguido de ELISA, con el fin de lograr un control más eficiente de la TB (2,3). El objetivo de este trabajo fue describir la evolución de la frecuencia de TB utilizando al ELISA como diagnóstico complementario a la IDR.

Materiales y métodos. Fueron seleccionados tres establecimientos lecheros de las provincias de Córdoba (A y B) y Buenos Aires (C), con antecedentes de TB endémica. Estos campos presentaban un historial de, al menos, tres años de saneamiento utilizando el esquema de diagnóstico (IDR) y eliminación de los reactivos, sin lograr el objetivo. Los establecimientos A, B y C presentaban una prevalencia inicial del 14%, 2,5% y 3,8%, respectivamente. En ellos se llevó a cabo la estrategia de uso combinado en serie (IDR seguido de ELISA), la cual se aplicó durante dos años seguidos. La aplicación y lectura de la IDR continuó a cargo del veterinario acreditado quién, además, colectó muestras de suero de los bovinos adultos negativos a la prueba, entre 15 y 25 días *post* IDR, aprovechando así el efecto *booster* que esta técnica genera (3,4). La prueba de ELISA se realizó semestralmente, contabilizando cuatro análisis en cada establecimiento de acuerdo al procedimiento descrito previamente (2). La evolución de TB en el rodeo fue evaluada en base a los resultados de IDR obtenidos durante el periodo de estudio. Todos los animales positivos a cualquiera de las dos técnicas fueron segregados y eliminados del rodeo entre 5 y 10 días posteriores a los resultados.

Resultados. Fueron realizados un total de 6036 análisis mediante el test ELISA, correspondientes a 1509 bovinos. En los tres rodeos se detectaron 141 animales reactivos a la IDR y otros 57 al ELISA, en los distintos análisis realizados (tabla1). La frecuencia de ELISA positivo para cada establecimiento fue de: A (2,7%, 1,5%, 0% y 0,3%) B: (3%, 0%, 1% y 0%), y C:(2,2%, 0,9%, 0,3% y 0%). En todos los casos analizados se confirmó la presencia de *M. bovis* a través de bacteriología/PCR. (Tabla 1)

Discusión. Este estudio explora la frecuencia de positividad que puede observarse a la prueba IDR+ELISA en tres rodeos lecheros endémicos. Si bien no se logró la erradicación de TB, en los tres casos se obtuvo un descenso marcado en la frecuencia de animales infectados (IDR reactivos). En este sentido, se identificaron 57 animales negativos a la prueba diagnóstica oficial, de los cuales en 12 de ellos se pudo

corroborar la infección por *M. bovis*, cuya permanencia hubiera implicado un riesgo de infección para el resto del rodeo. Los resultados obtenidos indican que el uso de ELISA a continuación de IDR, en conjunto con la implementación de medidas de biocontención, podría contribuir al control de la TB. Futuros estudios serán necesarios para validar la prueba de ELISA y su uso combinado con IDR, a fin de su incorporación en los programas de control.

Análisis	Rodeo A (n=348)		Rodeo B (n=472)		Rodeo C (n=689)	
	IDR	ELISA	IDR	ELISA	IDR	ELISA
1	48 (14%)	9 (2,7%)	12 (2,5%)	14 (3%)	26 (3,8%)	15 (2,2%)
2	11 (3,24%)	5 (1,5%)	9 (1,9%)	0	14 (2%)	6 (0,9%)
3	5 (1,5%)	0	3 (0,63%)	5 (1%)	9 (1,3%)	2 (0,3%)
4	1 (0,3%)	1 (0,3%)	1 (0,2%)	0	2 (0,3%)	0
Total	65	15	25	19	51	23

Tabla 1: Total de animales diagnosticados como positivos a la IDR y al ELISA en los cuatro análisis realizados.

Bibliografía

- 1- Secretaría de Agricultura, Dirección de Sanidad Animal, Argentina (2012). Plan Nacional de Control y Erradicación de la Tuberculosis Bovina, Res. N° 128/2012 SENASA/SAGPyA.
- 2- Garbaccio, S.G., Garro, C.J., Delgado, F., Tejada, G.A., Eirin, M.E., Huertas, P.S., León, L.A., Zumárraga, M.J. (2019) Enzyme-linked immunosorbent assay as complement of intradermal skin test for the detection of *Mycobacterium bovis* infection in cattle. Tuberculosis (Edinb). 117, pag:56-61.
- 3- RayWaters, W., Vordemeier, H.M., Rhodes, S., Khatri, B., Palmer, M.V., Maggioli, M. F., Thacker, T.C., Nelson, J.T., Thomsen, B.V., Robbe-Austerman, S., Bravo Garcia, D.M., Schoenbaum, M.A., Camacho, M.S., Ray, J.S., Esfandiari, P., Lambotte, R. Greenwald, A. Grandison, A. Sikar-Gang, K.P. Lyashchenko (2017) Potential for rapid antibody detection to identify tuberculous cattle with non-reactive tuberculin skin test results. BMC Veterinary Research 13:164.
- 4- Casal, C., Díez-Guerrier, A., Alvarez, J., Rodríguez-Campos, S., Mateos, A., Linscott, R., Martel, E., Lawrence, J.C., Whelan, C., Clarke, J., O'Brien, A., Domínguez, L., Aranaz, A. (2014). Strategic use of serology for the diagnosis of bovine tuberculosis after intradermal skin testing. Veterinary Microbiology.170:342–351.
- 5- Garbaccio, S.G., Macías, A., Shimizu, E., Paolicchi, F., Pezzone, N., Magnano, G., Zapata, L., Abdala, A., Tarabla, H., Peyru, M., Caimi, K., Zumárraga, M., Canal, A., Cataldi, A. (2014) Associationbetweenespilotype-VNTR types and virulence of *Mycobacterium bovis* in cattle. Virulence. Jan 7;5(2)

110- EVALUACIÓN DE UN ELISA DE COMPETICION PARA DETECCION DE ANTICUERPOS ANTI-NEOSPORA CANINUM EN BOVINOS Y BUBALINOS

K. Cirone^{1,2}, J.L. Konrad^{3,4}, F. Fiorani^{2,4}, Y.P. Hecker¹, D.P. Moore^{2,4*}

⁽¹⁾Grupo de Sanidad animal -INTA EEA Balcarce. ⁽²⁾Facultad de Cs Agrarias, Universidad Nacional Mar del Plata (UNMDP). ⁽³⁾Facultad de Cs Veterinarias, Universidad Nacional del Nordeste (UNNE) ⁽⁴⁾Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). * moore.dadin@inta.gob.ar

Introducción

Neospora caninum es un protozoo Apicomplexa que afecta a los animales de producción incluyendo bovinos y búfalos de agua (*Bubalus Bubalis*) (Dubey et al., 2017). En el ganado bovino es causal de abortos y las pérdidas económicas a nivel nacional se estimaron en más de U\$S 30 millones (Moore et al., 2013). La detección de anticuerpos contra *N. caninum* en búfalos ha sido reportada en diversos países. En Argentina, se detectaron anticuerpos específicos en el 64% de búfalos pertenecientes a diferentes establecimientos productivos (Campero et al., 2007). Aunque su rol como agente causal de abortos requiere mayores investigaciones, la muerte fetal fue inducida experimentalmente (Konrad et al., 2012). Las pruebas diagnósticas que detectan anticuerpos contra *N. caninum* en suero son herramientas útiles para el diagnóstico, vigilancia y control. Particularmente, la técnica de ELISA (del inglés *Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay*) ha sido ampliamente establecida para el diagnóstico de neosporosis, ya que es una técnica fácil y rápida (Atkinson et al., 2000). El objetivo del presente trabajo es evaluar el desempeño de un ELISA de competición para la determinación de anticuerpos anti-*N. caninum* en muestras de suero bovino y bubalino.

Materiales y métodos

Se tomaron muestras de sangre (n=82) de bovinos de animales pertenecientes a un rodeo lechero ubicado en la Cuenca Lechera mar y Sierras. Además, se tomaron muestras de sangre (n=58) de bubalinos de un establecimiento ubicado en la provincia de Corrientes. Las muestras fueron evaluadas mediante un ELISA de competición comercial (ELISAc, ID Screen® *Neospora caninum* competition, IDVet - gentilmente donado por Immunology SRL), calculando el porcentaje de competición (S/N%) a partir de las densidades ópticas obtenidas a 450nm; un ELISA kit comercial (ELISAI, CIVTEST® BOVIS NEOSPOSA, HIPRA), calculando el índice relativo al control positivo (IRPC) a partir de las densidades ópticas obtenidas a 405nm (Wapenaar et al. 2007) (solo para muestras de origen bovino) y mediante inmunofluorescencia indirecta (IFI), utilizando una dilución sérica de 1:100 (Dubey et al., 2006). Se comparó la proporción de casos positivos empleando la prueba de McNemar (Proc. FREQ, SAS Studio v3.8). La concordancia se evaluó en base al Porcentaje de acuerdo positivo, negativo y total (Cicchetti y Feinstein, 1990) y al índice Gwet AC1 (Gwet, 2002, Paquete “rel” v1.3.1, R v3.5.1).

Resultados

La proporción de muestras positivas no difirió significativamente entre técnicas (P>0,10) (Tabla1). El porcentaje de acuerdo positivo y negativo entre técnicas fue superior al 98% para muestras bovinas, aunque relativamente más bajo para muestras de búfalos (acuerdo total: 87,9%, Tabla 2). La concordancia (índice AC1) de los resultados del ELISAc con respecto a ELISAI e IFI fue

excelente para muestras de bovinos (0,98 y 0,96, respectivamente, Tabla 2). Con respecto a ELISAc e IFI para

muestras de búfalos también la concordancia fue alta (0,83, Tabla 2).

*No se detectaron diferencias significativas entre técnicas (P > 0,10)

Conclusión y Discusión

Los valores de acuerdo positivo y negativo entre las tres

Tabla 1: Frecuencia de *Neospora caninum* según la técnica empleada.

Técnica	n	Proporción de positivos
Bovinos (n=82)		
ELISAc	18	14,29
ELISAI	19	15,08
IFI	18	14,29
Bubalinos (n=58)		
ELISAc	49	84,48
IFI	48	82,76

técnicas fueron significativos y la concordancia observada del ELISAc con respecto a ELISAI e IFI fue excelente, aunque levemente mayor para el ELISAI que para el IFI en el caso de bovinos. Resultados similares se obtuvieron al comparar en muestras de búfalos el ELISAc e IFI. Estos resultados indicarían que el ELISAc tiene la misma capacidad diagnóstica para neosporosis que el ELISAI y la técnica de referencia utilizada (IFI).

La frecuencia de anticuerpos contra *N. caninum* es coincidente con los reportes previos (Campero et al., 2007). Aunque la enfermedad fue reproducida experimentalmente (Konrad et al., 2012) la importancia de este agente como causal de abortos espontáneos debería investigarse. No obstante, es común la convivencia de bovinos y bubalinos en los sistemas de producción del noreste argentino pudiendo, el búfalo de agua, ser reservorio de la enfermedad (Moore et al., 2014). Es necesario analizar un mayor número de muestras provenientes de rodeos con diferentes prevalencias de Neosporosis en bovinos y bubalinos especialmente, distintas condiciones de producción y otras especies animales para determinar sensibilidad, especificidad y puntos de corte optimizados respectivamente.

Bibliografía

Atkinson R, Harper PA, Reichel MP, Ellis JT. 2000, 16 (3): 110-114.
Campero CM, Pérez A, Moore DP, Crudeli G, Benitez D, Draghi MG, et al. Vet Parasitol. 2007, 150(1-2):155-8.
Cicchetti DV, Feinstein AR. J. Clin. Epidemiol. 1990, 43, pp. 551-558.
Dubey JP, Buxton D, Wouda W. J Comp Pathol. 2006,134:267-289.
Dubey JP, Hemphill A, Calero-Bernal A, Schares G. Neosporosis in Animals. 1st Edition. Boca Raton, FL: CRC Press. 2017. pp.530.
Gwet K. Stat. Methods Inter-Rater Reliab. Assess. Ser 2002, 2, 1-9 (2002).
Konrad JL, Moore DP, Crudeli G, Caspe SG, Cano DB, Leunda MR, Lischinsky L, Regidor-Cerrillo J, Odeón AC, Ortega-Mora LM, Echaide I, Campero CM. Vet Parasitol. 2012, 187(1-2):72-8.
Moore D, Reichel M, Spath E, Campero C. Tropical Animal Health and Production. 2013; 45:1237-1241.
Moore DP, Konrad JL, San Martino S, Reichel MP, Cano DB, Méndez S, Späth EJ, Odeón AC, Crudeli G, Campero CM. Vet Parasitol. 2014,203(3-4):259-63.
Wapenaar W, Barkema HW, Schares G, Rouvinen-Watt K, Zeijlmeijer L, Poorter B, et al. 2007,(145):51-58, 10.

Tabla 2: Porcentaje de acuerdo y concordancia entre técnicas.

Técnicas	n	Porcentaje de acuerdo			Gwet's AC1	
		Negativo	Positivo	Total	AC1	IC95%
Bovinos						
ELISAc vs. ELISAi	82	99,2	97,3	98,8	0,98	0,94– 1
ELISAc vs. IFI	82	98,5	94,1	97,6	0,96	0,91– 1
ELISAi vs. IFI	82	99,2	97,3	98,8	0,98	0,94– 1
Bubalinos						
ELISAc vs. IFI	58	63,2	92,8	87,9	0,83	0,71– 0,96

PARASITOLOGÍA

P1-DINÁMICA DE ANTICUERPOS ANTI- *TOXOPLASMA GONDII* DURANTE LA GESTACIÓN Y LACTANCIA EN CABRAS NATURALMENTE INFECTADAS

K.D. Steffen^{1,3}; M.L. Gos^{1,2}; R.O. Arias,³ M.C. Venturini¹; G. Moré^{1,2}

1. Laboratorio de Inmunoparasitología, Facultad de Ciencias Veterinarias-UNLP, La Plata, Bs. As., Argentina
2. Comisión Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Bs. As., Argentina
3. Curso de Introducción a la Producción Animal, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales-UNLP, La Plata, Bs. As. Argentina ksteffen@fcv.unlp.edu.ar

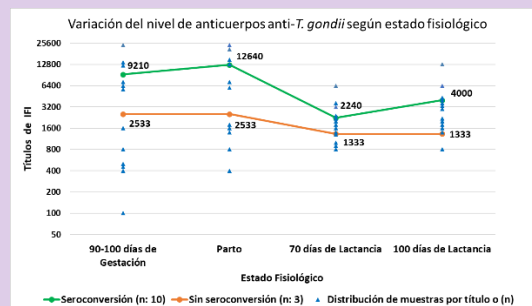
Introducción. La toxoplasmosis es una infección sistémica de distribución mundial producida por el protozoo parásito intracelular *Toxoplasma gondii*. Es considerada como una de las principales causas de abortos y muertes perinatales en caprinos, ocasionando grandes pérdidas económicas a los productores. Las cabras infectadas presentan anticuerpos anti-*T. gondii* y los niveles y dinámica de éstos pueden variar según se trate de una toxoplasmosis aguda, a una reinfección o reactivación o una infección crónica¹. La gestación, parto y lactancia son momentos o estados fisiológicos en que las cabras pueden manifestar cambios hormonales e inmunológicos que facilitarían la reactivación de la infección crónica^{1,2}. La reactivación/reinfección de la toxoplasmosis puede evidenciarse por el incremento significativo en los niveles de anticuerpos en muestreospareados. El objetivo de este trabajo fue evaluar la dinámica de los anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* en cabras naturalmente infectadas desde el segundo tercio de la gestación hasta los 100 días de lactancia.

Materiales y métodos. Se obtuvieron muestras de suero de 13 cabras adultas, biotipo lechero de cruce ¾ Saanen ¼ Anglo Nubian, durante gestación y lactancia, pertenecientes a la Unidad Experimental Caprina de la FCyF-UNLP. Se realizaron cuatro muestreos: a los 90-100 días de la gestación (G), al momento del parto (P) y a los 70 y 100 días de lactancia (L70 y L100, respectivamente). Los sueros se analizaron por la técnica de Inmunofluorescencia indirecta (IFI) en diluciones en base 2 a partir de 1/100, con taquizoítos de la cepa RH de *T. gondii* como antígeno, conjugado anti-IgG de cabra comercial. Se evaluó el título individual y el promedio de títulos de IFI de todas las cabras en cada muestreo. Se consideró seroconversión a la variación significativa de títulos (al menos 4 veces) entre muestras pareadas.

Resultados. Todas las cabras resultaron seropositivas en todos los muestreos. La distribución de títulos se representa en la Tabla 1.

Título IFI	G (n)	P (n)	L70 (n)	L100 (n)
100	1	0	0	0
200	0	0	0	0
400	3	1	0	0
800	1	1	3	1
1600	1	3	7	5
3200	0	0	2	5
6400	3	2	1	1
12800	2	3	0	1
25600	2	3	0	0
Promedio	76 69	103 08	203 1	3385

La dinámica de los títulos de anticuerpos anti-*T. gondii* de cabras con y sin seroconversión se representa en la Fig. 1.



Referencias: Los números del gráfico indican el promedio de títulos.

Discusión y conclusión. Se detectó una alta tasa de seroconversión positiva y negativa, entre el segundo tercio de la gestación y el parto, y entre el parto y los 70 días de lactancia, respectivamente. Se evidenció un aumento del promedio de anticuerpos durante el último tercio de la gestación, con un pico al parto, para luego disminuir paulatinamente en la lactancia hasta los 70 días. Posteriormente se evidenció un aumento menor a los 100 días de lactancia. Estos datos permiten suponer una infección activa en el último tercio de la gestación de la mayoría de las cabras, lo que podría deberse a una reinfección o reactivación de la infección. El descenso en los niveles de anticuerpos luego del parto podría tener relación directa con la vida media de éstos y con una "pérdida" acelerada por su excreción en leche. El leve aumento del promedio de anticuerpos detectado luego de pasado el pico de lactancia (100 días), podría sugerir una nueva reactivación. Estos datos sugieren que la gestación y la lactancia son períodos fisiológicos estresantes que contribuirían a un menor control de patógenos intracelulares y una mayor producción de anticuerpos. Estos factores permitirían la reactivación de infecciones crónicas con *T. gondii*, aumentando la probabilidad de transmisión transplacentaria de taquizoítos al final de la gestación y su aparición eventual en calostro y leche. Se prevé continuar con los estudios para establecer la asociación de los niveles de anticuerpos y la aparición del protozoo en calostro o leche y determinar la potencial transmisión lactogénica de la toxoplasmosis.

Bibliografía

- 1-Dubey JP. 2010. Toxoplasmosis of Animals and Humans. 2nd Edition. CRC Press. Boca Ratón. FL. USA.
- 2-Gazzonis, A.L., Zanzani, S.A., Villa, L., Manfredi, M.T. 2019. Toxoplasma gondii in naturally infected goats: Monitoring of specific IgG levels in serum and milk during lactation and parasitic DNA detection in milk. Preventive Veterinary Medicine 170, 104738.

P2-FASCIOSIS CLÍNICA EN OVINOS DEL ALTIPLANO DE JUJUY, ARGENTINA

R.E Marin ¹

¹Facultad Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Jujuy, Argentina. raulemarin@hotmail.com

Introducción. Introducción. La Fasciolosis (*Fasciola hepática*) es considerada como una de las enfermedades parasitarias más importantes de los rumiantes domésticos, que además afecta a gran cantidad de animales herbívoros y omnívoros, y ocasionalmente al hombre. Es endémica en las áreas del noroeste argentino favorables para esta parasitosis, afectando a varias especies de ganado. La región puna se caracteriza por pastizales de altura en promedio entre los 4500 m snm, el clima es seco y frío, con amplitudes térmicas de 30 °C. La ganadería de altura se desarrolla a escala familiar con pequeños productores, siendo la principal actividad económica en vastas regiones de la puna, por cuanto la sanidad animal adquiere mayor relevancia. El objetivo de éste trabajo es reportar un brote de Fasciolosis clínica en un rebaño de ovinos, y el severo impacto productivo producido.

Materiales y métodos. El caso se presentó durante el invierno, en un rebaño con 250 ovinos al momento de la visita, ubicado en la localidad de La Banda, en cercanías de la ciudad de Abra Pampa, a 3474 msnm. Según el relato del propietario la mortandad acumulada en dos meses era de aproximadamente 120 animales. Se realizó la anamnesis, la inspección del rebaño y del predio de las instalaciones, que contaba con alambrado perimetral, utilizando como abrevadero una laguna natural. Se realizó la exploración clínica de varios animales, se tomó muestras de sangre en tubos con EDTA, por venopunción yugular, para análisis de parámetros de hematología clínica de 4 animales adultos, y posteriormente se realizó la necropsia de 2 animales representativos clínicamente.

Resultados. Durante la inspección clínica del rebaño durante el movimiento de los mismos, puso en evidencia animales débiles, los cuales se quedaban quietos o caían en postración, marcadamente agitados. El recuento de eritrocitos promedio fue de 3,390 Mill. /mm³, el índice de hematocrito promedio fue de 13,2 %, mientras que los valores promedio de proteínas totales, albúmina, globulinas fue de 3,34 %, 1,14 %, 2,20 % respectivamente. Se realizó el examen clínico de 8 animales, observándose marcada tumefacción blanda fluctuante indolora submandibular (Foto 1), con palidez marcada de las mucosas orales y conjuntivales (Foto 2). La palpación de zonas corporales para determinar su estado corporal determinó con baja condición corporal a todos los animales examinados. La necropsia de ambos animales evidenció severo edema gelatinoso amarillento subcutáneo, marcada palidez muscular con alto grado de atrofia y ausencia de grasa de cobertura (Foto 3). Se observó hidrotórax moderado, hidropericardio, atrofia gelatinosa de la grasa de reserva cardíaca y perirenal, ascitis severa y edema mesentérico severo gastrointestinal. El hígado presentaba apariencia hipomegálica, de color pálido y consistencia semielástica al tacto, con depresiones blanquecinas difusas. La vesícula biliar se encontraba pletórica, con bilis espesa amarillenta y gran cantidad de formas parasitarias adultas de *Fasciola hepática*. Los canalículos biliares se observaban muy marcados, tortuosos y dilatados, con abundante cantidad de formas parasitarias de *Fasciola Hepática* obturando la luz canalicular (Foto 4). Al corte del órgano se observó marcada palidez parenquimatosa de aspecto fibroso engrosando la trama biliar, con presencia de formas parasitarias de *F. hepática* dentro de los canalículos biliares. No se observaron lesiones abomasales compatibles con acción parasitaria



Conclusiones. Los hallazgos hematológicos demuestran una severa anemia e hipoproteinemia con marcada hipoalbuminemia, en concordancia con hallazgos clínico patológicos observados, que junto a la severa parasitación por *Fasciola Hepática* determinan el diagnóstico establecido. El grado de desnutrición y anemia observados, se adjudica a la infestación parasitaria severa, posiblemente agravado por la carencia forrajera en un ambiente árido y con pobre disponibilidad sobre todo a finales de invierno. La laguna natural posiblemente sea el origen y el reservorio permanente de la parasitosis detectada. A pesar de las recomendaciones terapéuticas y de manejo nutricional efectuadas, se considera que posiblemente la mortandad y la pérdida productiva prosiga debido a la gravedad de la signología clínica observada aproximadamente el 40 % del rebaño. Se considera oportuno describir éste caso debido al alto impacto sanitario y económico que puede causar la desatención de éste tipo de parasitosis en ambientes áridos y extremos, con escasas de aguas seguras.

Bibliografía

- Hurtrez-Boussès et al. 2001. Dynamics of host-parasite interactions: The example of population biology of the liver fluke (*Fasciola hepatica*) *Microbes and Infection* 3(10):841-849.
- Aguirre, D.H. et al. 2005. Fasciolosis clínica en cabras de Metán (Salta, Argentina) *Revista FAVE - Ciencias Veterinarias* 4 (1-2).

P3-EVALUACIÓN DE SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE UNA PRUEBA INTRADÉRMICA PARA DETECCIÓN DE ANIMALES INFECTADOS CON *NEOSPORA CANINUM*

F. Fiorani^{1,2}, K.M. Cirone^{2,3}, Y.P. Hecker¹, G.J. Cantón³, P.M. Corva², D.P. Moore^{1,2*}

⁽¹⁾Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). ⁽²⁾Facultad de Cs Agrarias, Universidad Nacional Mar del Plata (UNMDP). ⁽³⁾Grupo de Sanidad animal -INTA EEA Balcarce, CC 276 (7620), Balcarce, Buenos Aires. (*) moore.dadin@inta.gob.ar

Introducción. La neosporosis bovina es una de las principales causas de aborto bovino en todo el mundo. Ante la ausencia de vacunas y tratamientos farmacológicos, el control de la enfermedad se basa en la identificación de animales infectados asociado a medidas de manejo. Con la finalidad de reducir el impacto de los abortos, una práctica sanitaria habitual es limitar o evitar reponer con vientres seropositivos a *Neospora caninum*. La identificación de estos animales generalmente se realiza previo al primer servicio mediante la detección de anticuerpos (Ac) anti-*N. caninum*. Sin embargo, debido a la dinámica de la interacción hospedador-parásito, una proporción de animales infectados pueden resultar falsos negativos con estas técnicas serológicas y perjudicar el control de la enfermedad. Considerando la importancia de la respuesta inmune celular generada por el hospedador frente al parásito, se ha evaluado una prueba intradérmica (PID) en bovinos formulada con antígenos de *N. caninum* como alternativa de diagnóstico, la que ha mostrado una reacción local en bovinos infectados con un tamaño diferencial en relación con no infectados, aun cuando los niveles de anticuerpos caen por debajo del límite de detección de las técnicas serológicas. El objetivo de este trabajo es determinar los valores de sensibilidad (Se) y especificidad (Es) de la PID para la detección de animales infectados con *N. caninum* y evaluar el potencial comportamiento de la misma bajo una combinación “en paralelo” con las técnicas serológicas utilizadas de forma rutinaria en el diagnóstico de neosporosis bovina.

Materiales y métodos. Fue utilizado un total de 115 registros de hembras bovinas inoculadas con un lisado de taquizoítos de *N. caninum* por vía intradérmica en la región cervical. El crecimiento del pliegue cutáneo en el sitio de inoculación (medida con un calibre (mm) 48 horas pos-inoculación) y el resultado serológico obtenido mediante inmunofluorescencia indirecta (IFI) y ELISA indirecto (HIPRA-CIVTEST) de todos los animales fue la información considerada para determinar los valores óptimos de Se y Es en base a punto de corte establecido mediante un análisis de curva ROC (MedCalc v.4.1). De esta forma, la variable a analizada fue el crecimiento del pliegue cutáneo (mm) y animales seropositivos a IFI (1/200) y a ELISA (IRPC < 10) fueron considerados como verdaderos positivos. Bajo este último criterio, un total de 79/115 hembras fueron positivas y 36/115 resultaron negativas. Para evaluar el comportamiento de la prueba intradérmica en una estrategia “en paralelo” con las técnicas serológicas se utilizó el software Winepi 2.0 considerando los valores promedios de Se y Es reportados por Campero y col., 2017 siendo la Se: 92.1% y Es: 95.5% para la técnica de ELISA y una Se: 84.5% y Es: 92.8% para IFI.

Resultados. El punto de corte que optimiza los valores de Se y Es obtenidos mediante el análisis de una curva ROC fue de 1.5 mm de crecimiento del pliegue cutáneo 48 h posteriores a la inoculación intradérmica (Gráfico 1). Los valores de Se y Es para ese punto de corte fueron de 63% y 94% respectivamente y el área bajo la curva (AUC) fue de 0.79 (0.707–0.862) con un IC del 95%.

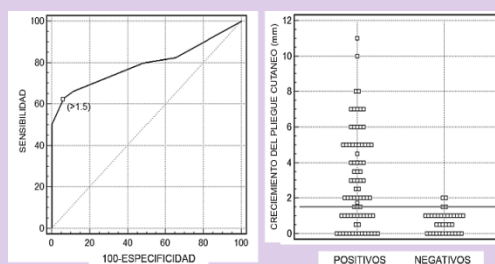


Figura 1. Curva ROC obtenida para la determinación de punto de corte, Se y Es de la PID para *N. caninum*

En base a los valores obtenidos para la PID, la evaluación de la performance en términos de Se y Es de una estrategia “en párelo” basada en la combinación con una de las de las técnicas serológicas comúnmente utilizadas puede observarse en el Cuadro 1.

.ESTRATEGIA EN PARALELO	Se (%)	Es (%)
IFI + PID	94.3	87.2
ELISA + PID	97.1	89.8

Cuadro 1. Valores de Se y Es basados en una estrategia en paralelo entre técnicas serológicas y PID

Conclusión y discusión. Los valores de Se y Es obtenidos para la PID fueron aceptables y el AUC obtenido indica que la prueba es capaz de discriminar animales positivos y negativos. Asimismo la estrategia “en paralelo” permitiría aumentar performance de las técnicas en comparación con su utilización de forma individual. La identificación de animales infectados es el punto de partida para el control de la neosporosis bovina. En base a ello, la evaluación de una técnica de diagnóstico que ponga de manifiesto la inmunidad mediada por células, fundamental en el control de la infección con patógenos intracelulares como *N. caninum*, sumado a la posibilidad de utilizar una estrategia que combine la aplicación de técnicas que detecten ambos tipos de respuesta inmune podría optimizar la Se aumentando la capacidad para detectar animales infectados y con ello el control de la neosporosis bovina.

Bibliografía

- Fiorani, F., Hecker Y.P., Cirone K.M., Armendano J., Gual I., Campero L.M., Wilkowsky S.E., Cobo E.R., Corva P.M., Morrell E.L., Cantón G.J., Moore D.P. 2020. Delayed-type hypersensitivity skin test against *Neospora caninum* in heifers with undetectable specific antibodies. *Comp. Immunol, Microbiol and Infect Dis.* 72 (2020) 101522.
- L. Campero and J. Moreno-Gonzalo, M. C. Venturini, G. More, A. Dellarupe, M. Rambeaud, I. Echaide, B. Valentini, C. Campero, D. Moore, D. Cano, M. Fort, R. Mota, M. Serrano-Martinez, C. Cruz-Vazquez, L. Ortega-Mora, G. Alvarez-Garcia. 2017. An Ibero-American inter-laboratory trial to evaluate serological tests for the detection of anti-*Neospora caninum* antibodies in cattle. *Tropical Animal Health and Production.* 50, 75-84.
- Guido, S., Katzer, F., Nanjiani, I., Milne, E., Innes, E.A. 2016. Serology-Based Diagnostics for the Control of Bovine Neosporosis, *Trends in Parasitology.* Elsevier Ltd.

P4-CARACTERIZACIÓN CLÍNICA DE LA SARNA SARCÓPTICA (*SARCOPTES SCABIEI* VAR. *AUCHENIAE*) EN LLAMAS (*LAMA GLAMA*) EN LA PROVINCIA DE JUJUY, ARGENTINA

R.E Marin¹, M.O Carabajal^{1,2}

¹Facultad Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Jujuy, Argentina.

²Ministerio de Desarrollo Económico y Producción de Jujuy. raulemarin@hotmail.com

Introducción. La llama (*Lama glama*) es una fuente de fibra y carne, indispensable para la subsistencia familiar de una amplia región del altiplano jujeño. *Sarcoptes scabiei* es un ácaro parásito mundialmente expandido causante de la sarna sarcóptica en humanos, animales domésticos y silvestres. Signos clínicos de sarna se observan unas cuatro semanas después de la exposición, cuando se establece una población de ácaros en el hospedador. Inicialmente los ácaros pueden suprimir la respuesta inmune del huésped, pero al aumentar la densidad de ácaros, el huésped comienza a exhibir una reacción de hipersensibilidad que provoca inflamación de la piel. Los efectos de la enfermedad incluyen afecciones en la piel, cambios en el metabolismo, la reproducción, el crecimiento, la termorregulación y sistema inmune, así como también efectos en el comportamiento como irritación y falta de alimentación con pérdida de condición corporal, e inclusive la muerte. Jujuy posee la mayor población de llamas del país, cohabitando en muchas regiones con especies silvestres como la vicuña (*Vicugna vicugna*) y otras especies domésticas como ovinos o caprinos. El objetivo de éste trabajo es describir los diferentes grados de presentación clínica de la sarna sarcóptica en llamas del altiplano jujeño.

Materiales y métodos. Se inspeccionaron 10 tropas de llamas ubicadas en los departamentos de Susques (7), Santa Catalina (2) y Rinconada (1) en que presentaron brotes de dermatopatías durante otoño e invierno en 2011, 2012, 2017 y 2018. Se caracterizaron las lesiones observadas, y se realizaron raspajes profundos de piel, conservados en etanol 70% y luego clarificados con hidróxido de potasio, para su posterior observación con microscopio óptico. En algunos casos también se realizaron raspajes de piel de cadáveres de vicuñas que presentaban similares lesiones dérmicas.

Resultados. Clínicamente se observaron cuadros leves, moderados y severos, siendo los casos extremos aquellos que presentaban más del 50 % del cuerpo afectado y con evidente infección secundaria. Los cuadros leves presentaron alopecia papular principalmente en la cara, alrededor de los labios y ojos, comúnmente observada en crías lactantes, relacionada con la transmisión del agente etiológico desde la región inguinal mamaria de la madre. Los cuadros moderados presentaron alopecia costrosa liquenificadas grisáceas, con grietas eritematosas, localmente extendidas en la mitad inferior de los miembros, zona peribucal, periorcular, orejas, región inguinal, y perineal. Los cuadros severos correspondían a lesiones más extendidas abarcando los 4 miembros completos, axilas, abdomen, periné y cara, con alopecia severa, engrosamiento marcado de la piel, con severas fisuras de la piel, y abundante exudado serohemorrágico, compatible con piodermia profunda, presentando estos casos además dificultades motrices, en postración y con gran deterioro de la condición corporal (Fotos A-F). Los raspajes de piel de las llamas resultaron positivos para *Sarcoptes scabiei* var. *aucheniae*, observándose ácaros vivos, ninfas, adultos y abundantes huevos (Foto G). Las muestras tomadas de lesiones dérmicas de vicuñas muertas resultaron positivas a *Sarcoptes scabiei* var. *aucheniae* muertos o restos identificables de los mismos. No se pudieron establecer índices de morbi-mortalidad en las llamas, debido a la deficiente información obtenida de los productores, y la imposibilidad de la inspección de la totalidad de los animales, por inexistencia de infraestructura adecuada para el manejo.



Discusión. La sarna en camélidos de Jujuy, sin dudas se presenta como una ectoparasitosis con características endémicas, posiblemente por la reinfestación permanente entre especies domésticas y silvestres, problemática históricamente conocida, pero que a pesar de los altos daños que produce, no se presentan planes de prevención adecuados desde los ámbitos oficiales relacionados a la actividad. Los signos clínicos de eritema, prurito y descamación son producto de la respuesta inflamatoria de la piel, desencadenada por la alimentación y los productos antigénicos del ácaro como, saliva y heces. La cronicidad lleva a infecciones secundarias y muerte. La transmisión de una especie a otra puede ocurrir debido a que, en el caso particular de *Sarcoptes scabiei*, la especificidad de hospedador no es completa y aunque la transmisión *S. scabiei* var. *aucheniae* se ha reportado en ovejas, caballos y seres humanos, esto no ha sido verificado en ninguno de estos casos. Si bien no pudo establecerse la tasa de incidencia de la enfermedad en estos casos, las observaciones de campo de los autores permiten considerar que los brotes producen altas pérdidas productivas, inclusive con regiones de brotes endémicos con cuadros clínicos crónicos de larga evolución y alta mortalidad.

Bibliografía

- Aráoz *et al.* 2016. Descripción clínico-patológica en brotes de sarna sarcóptica en vicuñas (*Vicugna vicugna*) y llamas (*Llama glama*) de la provincia de Jujuy, Argentina. X Reunión Argentina de Patología Veterinaria. Esperanza. Santa Fe, Argentina.
- Martin *et al.* 2018. The cascading pathogenic consequences of *Sarcoptes scabiei* infection that manifest in host disease. R. Soc. open sci.5: 180018. <http://dx.doi.org/10.1098/rsos.180018>
- Wernery U; Kaaden O. 2002. Infectious diseases in camelids. 2nd.edition. Blackwell science.USA.404p

P5-DIAGNÓSTICO DE *LAGOCHILASCARIS* SPP. EN UN FELINO DOMÉSTICO DE BUENOS AIRES

L.A. De Felice^{1,2}, L. García¹, A. Retontali¹

¹Actividad privada, Clínica de pequeños animales. ²Cátedra de Parasitología. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. ³idefelice@fcv.unlp.edu.ar

Introducción. La lagochilascariasis es una zoonosis parasitaria limitada al continente americano, causada por *Lagochilascaris* spp., Nematodos del orden Ascaridida, cuyo ciclo biológico es complejo e involucra a carnívoros silvestres, domésticos y roedores. Los perros y gatos, así como los humanos son considerados hospedadores definitivos accidentales, mientras que los roedores podrían actuar como paraténicos. Las manifestaciones clínicas pueden variar de leves a severas, siendo las lesiones más frecuentes los abscesos en la región cervical u orofaríngea. En Argentina se desconoce la prevalencia en animales de compañía, sin embargo, se han reportado casos en diferentes regiones, mientras que en humanos no se han notificado casos hasta el momento. El objetivo del presente trabajo es describir el diagnóstico clínico y parasitológico de *Lagochilascaris* spp. en un gato de la localidad de J. M. Gutierrez (Berazategui), provincia de Buenos Aires.

Materiales y métodos. En el mes de abril de 2021 ingresó a la veterinaria un felino hembra común europeo de aproximadamente 1 año de edad. Durante la anamnesis, la persona responsable del animal relató que la gata presentaba hábitos peridomiciliarios en un ambiente semi-rural, donde con frecuencia se hacen visibles roedores y comadrejas. No estaba desparasitada ni vacunada. El motivo de la consulta fue la observación de una deformación “en más” de localización facial. En el examen clínico se observó un estado general bueno, con peso óptimo para la edad. Los parámetros como temperatura, frecuencia cardíaca y respiratoria resultaron normales. Si bien, a la palpación de la lesión, no hubo manifestación de dolor, se decidió sedar a la paciente con xilacina/ketamina subcutánea (SC), con el fin de explorar mejor la zona y realizar las maniobras correspondientes. Luego del rasurado y antisepsia de la región afectada, se palpó una masa de consistencia firme que abarcaba la zona masetérica izquierda. Se realizó la incisión/punción/aspiración con aguja 25/8 y jeringa de 3 ml para un posible drenaje de contenido fluido. Durante el procedimiento se extrajeron dos ejemplares con características compatibles con nematodos adultos y escaso exudado seropurulento. Para el diagnóstico parasitológico se concentró el material recolectado en la jeringa mediante la técnica de flotación de Sheather, se centrifugó a 2500 rpm por 5 minutos y luego se observó al microscopio óptico (MO) a 10X y 40X. La morfología de los parásitos adultos se observó al MO a 4X. Para la toilette se utilizó iodo povidona jabonoso al 5%. Se instauró tratamiento con dexametasona a dosis antiinflamatoria de 0.1 mg/kg (SC), amoxicilina trihidrato al 15%, 15 mg/kg (SC) y doramectina al 1% 0,5 mg/kg (SC). Se indicó control a los 21 días para aplicar la segunda dosis de doramectina. A los 30 días, se observó la remisión completa de la lesión.

Resultados. Al MO se observaron dos vermes cilíndricos, blanquecinos, uno de ellos de aproximadamente 1 cm de longitud con el extremo posterior espiralado y el otro del doble

de tamaño y con la extremidad posterior recta. En el extremo anterior de ambos, se observó la presencia de engrosamientos cuticulares compatibles con labios. A partir del líquido de punción concentrado se observaron huevos esféricos de unas 70 µm de diámetro, de cáscara gruesa con la superficie irregular y un blastómero en su interior (figura 1). La morfología, tanto de los huevos como de los adultos, así como el diagnóstico clínico indicaron la presencia de *Lagochilascaris* spp.

Discusión y conclusión. En el presente caso de lagochilascariasis felina, la paciente no presentaba signos de dolor o disfagia, por lo tanto, el diagnóstico se llevó a cabo mediante el tipo de lesión, su localización y los hallazgos durante el examen clínico, como la presencia de parásitos adultos y huevos recuperados del absceso. Además, la información aportada por la responsable de la gata en cuanto a sus hábitos y entorno, sugieren la posible ingesta de roedores, coincidiendo con lo descrito en la bibliografía. Aunque los abscesos en los gatos ocurren generalmente por causas traumáticas, debería considerarse esta parasitosis entre los diagnósticos diferenciales, a pesar de la escasa difusión de casos confirmados. La respuesta óptima al tratamiento indicaría la importancia de realizar el diagnóstico sistemático temprano, incluyendo una anamnesis detallada. En Argentina, no se han registrado casos en humanos, sin embargo, los cambios climáticos que llevan al aumento de temperatura y humedad podrían favorecer el desarrollo de la larva dentro del huevo, dado que se trata de una helmintiasis emergente de zonas tropicales de América. Debido al riesgo potencial que representa para los humanos, además de compartir la forma de transmisión con los animales de compañía, sería de gran importancia el desarrollo de estudios epidemiológicos para conocer más detalles sobre la biología y distribución geográfica de *Lagochilascaris* spp. en nuestro país. En conclusión, ante un caso clínico sospechoso, debería implementarse de rutina en primer lugar, el diagnóstico parasitológico de laboratorio para su confirmación y también la divulgación de información a la comunidad sobre medidas de higiene y prevención.

Bibliografía

- Cruz-Reyes, A. 1993. Zoonosis parasitarias. In: Microbiología y parasitología para estudiantes de medicina. 1ª ed. Jorge Tay ed. Méndez Editores. México DF, pp. 3.27-3.33.
- Reis, R.A., Mangon, i C.F., T. de Mattos, M.J., Márquez, S.M.T. 2011. *Lagochilascaris minor* (Nematoda: Ascarididae) em gato doméstico: relato de caso. Rev. Méd. Vet. Vol 9-nº 1. Pp. 43-48.
- Sánchez A.; Giangreco S; Guerrero I.; Saumell C. 2016. Lagochilascariasis sp. en Felino Doméstico. Tesina de la Orientación Sanidad de pequeños animales. Facultad de Ciencias Veterinarias. UNCPBA. Tandil.

P6-DIAGNÓSTICO DE *TRITRICHOMONAS FOETUS* MEDIANTE CULTIVO MICROBIOLÓGICO VERSUS LA CONFIRMACIÓN TAXONÓMICA DE LOS AISLAMIENTOS POR PCR

F. De Marco¹; C. Cacciato^{2,3}; M.L. Doumecq²

¹Becario CIN. ²Laboratorio de Microbiología Clínica y Experimental, FCV-UNCPSA. ³Personal de Apoyo CICPBA. ldoumecq@vet.unicen.edu.ar

Introducción. La Trichomonosis genital bovina es una enfermedad venérea del bovino que causa pérdidas reproductivas en el sector agropecuario; cuyo agente etiológico es un protozooario piriforme flagelado denominado *Tritrichomonas foetus* (*T. foetus*). El método de rutina más utilizado para el diagnóstico de la Trichomonosis es el cultivo microbiológico e identificación del agente causal a partir de muestras clínicas tales como mucus cervico-vaginal, líquido abomasal de feto abortado y muestras prepuciales, siendo estas últimas las que más se examinan por la condición de portador del toro. Sin embargo, en los últimos años este método ha sido muy cuestionado debido al crecimiento en el medio de cultivo de otros protozoarios no patógenos, que se encuentran en el tracto digestivo del bovino, y pueden estar presentes en las muestras de esmegma prepucial remitidas para el diagnóstico de la trichomonosis. Estos protozoarios poseen características morfológicas y movilidad similares a *T. foetus* dificultando su diagnóstico habitual y pueden contribuir a falsos diagnósticos positivos si no se emplean los medios de cultivos adecuados y personal capacitado en la observación microscópica. Por este motivo se ha puesto en duda la especificidad de los medios de cultivos y se ha recomendado utilizar la técnica de PCR para el diagnóstico de esta enfermedad. No obstante, y a los efectos de mejorar la especificidad del método microbiológico, se puede recurrir a técnicas complementarias como la coloración T 15 para observar las características morfológicas de los protozoarios. El objetivo de este trabajo fue comparar los resultados de aislamientos de *Tritrichomonas foetus* obtenidos por técnicas microbiológicas de rutina versus la confirmación taxonómica de los aislamientos mediante (PCR).

Materiales y métodos. Para este trabajo se utilizaron 94 aislamientos de *T. foetus* pertenecientes a toros de diferentes establecimientos agropecuarios de la provincia de Buenos Aires y La Pampa. Estos aislamientos fueron diagnosticados como positivos mediante técnicas microbiológicas por diferentes laboratorios de diagnóstico y posteriormente enviados al Laboratorio de Microbiología Clínica y Experimental, FCV-UNCPSA para conformar un cepario para una tesis doctoral. En nuestro laboratorio, se replicaron y se cultivaron en el medio agar Diamond modificado (TYM) en aerobiosis a 37 °C durante 7 días con observaciones microscópicas cada 24 h, a través del fondo del tubo para la detección de protozoarios (metodología descrita por Lucchesi y col, 1988) aplicando criterios establecidos en la rutina de la observación microscópica. Posteriormente fueron criopreservados en nitrógeno líquido y luego descongelados para realizar la extracción de ADN. Para la extracción de ADN los aislamientos de *T. foetus* se descongelaron y se subcultivaron en medio caldo TYM por 24-48 h a 37 °C. Luego se tomó 1 ml y se realizaron dos lavados mediante centrifugación a 1500 G con PBS estéril pH 7,2 durante 10 minutos. El pellet se resuspendió en 1 ml de PBS estéril y se realizó el recuento en cámara de Neubauer para llevar a una concentración de 500.000 Tf/ml. Se centrifugó a 1500 G por 10 minutos y el pellet se resuspendió en 500 µl H₂O bidestilada estéril. Posteriormente se colocó cada aislamiento en baño de agua hirviendo durante 20 minutos, se enfrió a 60 °C y se agregó 5 µl Proteinasa K incubándose a 60 °C durante 30 minutos en baño de agua. Luego se hirvió nuevamente 15 minutos y se centrifugó 5 min a 4000 G, se retiró el sobrenadante (ADN solubilizado) y se guardó a -20 °C. Se

utilizaron los primers TFR1 y TFR2 común a toda la familia Trichomonadidae y los primers TFR3 y TFR4 específicos para *T. foetus* (Felleisen y col 1998). Para ambas PCR la mix se preparó con el kit T-Plus ADN Polimerasa (Inbio Highway®) con un volumen final de reacción de 25 µl, conteniendo: buffer Taq 1x, MgCl 2 2.5 mM, dNTPs 0.2 mM, primer F 0.2 µM, primer R 0.2 µM, gelatina 0,01%, Taq 0.5U y 2,5 µl de ADN. Para la amplificación del ADN se utilizó un termociclador (Ivema T-18) y fue realizada con el siguiente programa: incubación inicial de 3 minutos a 94 °C, seguidos de 30 ciclos de desnaturalización a 94°C 30s, annealing a 65 °C 30s y extensión a 72 °C 60s. La amplificación fue concluida con una extensión final de 5 minutos a 72°C. Todas las PCR se realizaron con 4 controles; control positivo a *T. foetus*, control positivo a flia. *Trichomonadidae* pero negativo a *T. foetus*, control negativo con cepa *Campylobacter fetus* y control negativo del sistema con agua destilada. Los amplicones fueron separados por electroforesis en gel de agarosa al 1,27% a 75V, coloreados con gel Red (Biotium®) y observados con transiluminador UV.

Resultados. Los 94 aislamientos criopreservados amplificaron una banda de 372 bp correspondiente al gen para la familia Trichomonadidae y 92 aislamientos (98%) amplificaron una banda de 347 bp correspondiente al género pudiéndose confirmar taxonómicamente que eran *T. foetus*.

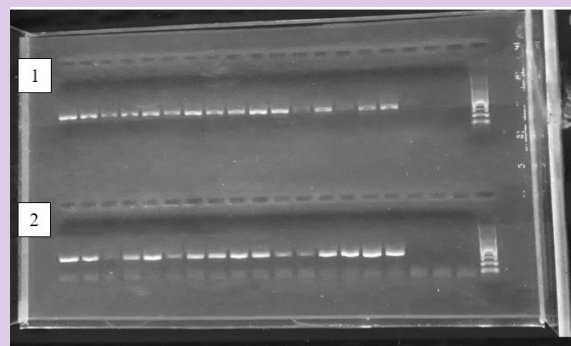


Figura 1: Visualización de los fragmentos de ADN en gel de agarosa. (1) Amplicones para familia Trichomonadidae (TRF 1-2), (2) amplicones para género *T. foetus* (TFR 3-4).

Discusión y conclusión. Se pudo confirmar mediante la técnica de PCR que el 98% de los aislamientos que habían sido identificados con técnicas microbiológicas de rutina por diferentes laboratorios de diagnóstico correspondían a *T. foetus*. Con este resultado al igual que lo ya publicado en el 2014 y en 2018 por Soto y col. se respalda a los medios de cultivo y a las técnicas microbiológicas como de alto valor diagnóstico a la hora de identificar *T. foetus* en un rodeo bovino infectado, utilizando las técnicas moleculares como la PCR, las cuales son más costosas y sofisticadas, para muestras sospechosas o difíciles de diagnosticar.

Bibliografía

- Felleisen, R. y col. 1998. J. Clin. Microbiol. 36(2):513-19.
- Lucchesi, E. y col. 1988. AAVLD.
- Soto, P. y col. 2014. AAVLD.
- Soto, J. y col. 2018. AAVLD.

P7-TRANSMISIÓN DE *CRYPTOSPORIDIUM* SP. EN ESTABLECIMIENTOS LECHEROS DE LUJÁN, BUENOS AIRES, ARGENTINA

E. Schwab¹, S. Simonato¹, G. Carullo¹, M.V. Angelini¹, M.J. Zumárraga², M.E. Eirin², M.E. Solana¹.

¹ Universidad Nacional de Luján, Buenos Aires, Argentina.

² Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular (IABIMO), UEDD INTA-CONICET, Hurlingham, Buenos Aires, Argentina.
erikaschwab@hotmail.com

Introducción. La criptosporidiosis, zoonosis parasitaria causada por *Cryptosporidium* sp., infecta a una gran variedad de vertebrados incluyendo al humano y es la principal causa mundial de diarrea parasitaria en bovinos. El género *Cryptosporidium* incluye numerosas especies, entre ellas *C. parvum*, de importancia zoonótica e impacto pecuario ya que afecta a terneros menores de 60 días. En Argentina su prevalencia estimada es de 16-29%, siendo Buenos Aires la provincia en la que se localizan la mayor parte de los estudios y *C. parvum* la especie más prevalente. Su detección en materia fecal se realiza por visualización microscópica de ooquistes teñidos o mediante la detección de un fragmento del gen 18S de ARN ribosomal mediante la técnica de PCR. Los objetivos del presente trabajo fueron: 1) estimar la prevalencia de infección por *Cryptosporidium* sp. en rodeos lecheros pertenecientes al partido de Luján por detección microscópica y biología molecular; 2) identificar las especies de *Cryptosporidium* en muestras de materia fecal de bovinos mediante la secuenciación de los productos de PCR-touchdown; 3) determinar los factores epidemiológicos asociados a su transmisión.

Materiales y métodos. Para ello, se recolectaron muestras de materia fecal de terneros *Bos taurus*, raza Holando Argentino en etapa de crianza provenientes de cuatro establecimientos lecheros del partido de Luján, provincia de Buenos Aires. Se realizaron encuestas epidemiológicas a sus propietarios con el fin de registrar datos acerca de las características generales de las guacheras, sistema de crianza, alimentación, sanidad y bienestar/confort animal. Para estimar la prevalencia de infección por microscopía, se investigó la presencia de ooquistes coloreados con la tinción de Kinyoun en frotis de materia fecal. A su vez, se determinó la prevalencia por biología molecular mediante la amplificación de un fragmento del gen de la subunidad menor 18S de ARNr de *Cryptosporidium* sp. empleando la técnica de PCR-touchdown, con los primers descritos por Xiao et al., 1999. Para identificar las especies de *Cryptosporidium* presentes en las muestras se realizó la secuenciación de los productos de amplificación, los cuales fueron comparados con secuencias disponibles en la base de datos GenBank. Para determinar los factores predisponentes para adquirir la infección se realizó un estudio de riesgo (*Odds ratio*). Además, se estimó por regresión logística binaria el efecto de todas las variables en su conjunto.

Resultados. La prevalencia general obtenida por microscopía fue de 27%, hallándose diferencias entre los establecimientos estudiados (6,25-60%; $p=0,024$). A su vez, mediante la técnica de PCR-touchdown se obtuvo un valor de prevalencia general de 16% (Figura 1). En todos los establecimientos fue prevalente *C. parvum* y en uno de ellos también se detectó *C. bovis* en menor proporción. El análisis de riesgo demostró que las condiciones de manejo, el tipo de crianza, la alimentación y las características particulares de la guachera representan factores epidemiológicos relevantes en la transmisión parasitaria, y que la infección por *Cryptosporidium* sp. constituye un factor de riesgo asociado al desarrollo de diarrea.

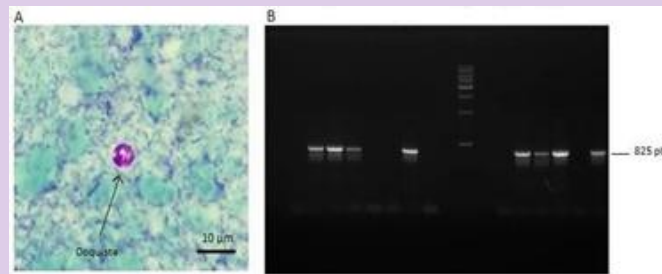


Figura 1. A. Microfotografía de un ooquiste maduro de *Cryptosporidium* sp con esporozoitos en el interior (Nikon Eclipse E200, 100X). B. Fragmentos amplificados por PCR-touchdown (pb) del gen 18S de ARNr de *Cryptosporidium* sp., visualizados en un gel de agarosa teñidos con bromuro de etidio.

Discusión y conclusión. Así, en el presente trabajo se estudió la infección por *Cryptosporidium* mediante un abordaje integral incluyendo los factores implicados en su transmisión y la determinación de especies en establecimientos lecheros del partido de Luján, provincia de Buenos Aires. Los datos confirman la presencia de la especie zoonótica *C. parvum* y demuestran el hallazgo de la especie *C. bovis* no descrita previamente en el área de estudio. Los resultados obtenidos demuestran que la identificación de factores relevantes que condicionan la transmisión de *Cryptosporidium* sp., resultan fundamentales para diseñar estrategias de control capaces de mitigar y prevenir los efectos de la infección en rodeos lecheros del partido de Luján, evitar su transmisión al ser humano y controlar la contaminación del medio ambiente con ooquistes. Asimismo, disponer de una técnica alternativa de PCR, optimizada en formato touchdown, de sencilla ejecución, menor duración, costos y probabilidad de contaminación respecto de la PCR anidada descrita por Xiao et al., 1999, constituye una herramienta importante para conocer la circulación de especies de *Cryptosporidium* sp. en rodeos lecheros y su real impacto en la producción pecuaria.

Bibliografía

- 1-Garro, C.J., Morici, G.E., Tomazic, M.L., Vilte, D., Encinas, M., Vega, C., Bok, M., Parreño, V. & Schnittger, L. 2021. Occurrence of *Cryptosporidium* and other enteropathogens and their association with diarrhea in dairy calves of Buenos Aires province, Argentina. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 24: 1-7.
- 2-Garro, C.J., Morici, G.E., Utgés, M.E., Tomazic, M.L. & Schnittger, L. 2016. Prevalence and risk factors for shedding of *Cryptosporidium* spp. oocysts in dairy calves of Buenos Aires Province, Argentina. *Parasite Epidemiology and Control*, 1, (2): 36-41.
- 3- Xiao, L., Escalante, L., Yang, C., Sulaiman, I., Escalante, A. A., Montali, R.J., Fayer, R. & Lal, A.A. 1999. Phylogenetic analysis of *Cryptosporidium* parasites based on the small-subunit rRNA gene locus. *Applied and Environmental Microbiology*, 65, (4): 1578-1583.
- 4- Del Coco, V.F., Córdoba, M.A. & Basualdo, J.A. 2008. *Cryptosporidium* infection in calves from a rural area of Buenos Aires, Argentina. *Veterinary Parasitology*, 158, (1-2):31-35.

P8-PRIMERA DETECCIÓN MOLECULAR DE *TOXOPLASMA GONDII* EN VISÓN AMERICANO (*NEOVISON VISON*) EN ARGENTINA

M. Runco^{1,2}; M.L. Guichón⁵; M.L. Gos^{1,2,4*}; V. Rago⁵; L. Piudo⁶; M. Monteverde⁶; A. González⁶; L.M. Campero^{2,3,4*}; M.C. Venturini^{1,4}

¹Laboratorio de Inmunoparasitología (LAINPA), Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata.

²Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

³Laboratorio de Patología Veterinaria, Grupo de Sanidad Animal, Departamento de Producción Animal, Instituto de Innovación para la Producción Agropecuaria y el Desarrollo Sostenible (IPADS Balcarce).

⁴Inmunobiología Animal Básica, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata.

⁵Grupo de Ecología Terrestre de Neuquén, Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Medioambiente (INIBIOMA, UNCo-CONICET), Subsección Junín de los Andes Neuquén.

⁶Grupo de Ecología Terrestre de Neuquén, Centro de Ecología Aplicada del Neuquén (CEAN), Junín de los Andes, Neuquén.

* lcampero@fcv.unlp.edu.ar, mgos@fcv.unlp.edu.ar

Introducción. *Toxoplasma gondii* es un parásito protozoario apicompleja cosmopolita que afecta a una gran diversidad de animales homeotermos incluido el ser humano, produciendo una de las zoonosis más difundidas en el mundo. La enfermedad en carnívoros silvestres no es común. Existe un reporte en Estados Unidos, de visón silvestre¹ con sintomatología nerviosa y diagnóstico de toxoplasmosis aguda, asimismo en Chile² se reportó una seroprevalencia de 59% para visones silvestres asintomáticos y se detectó la presencia de ADN de *T. gondii* en un solo individuo. La infección se produce tras la ingestión de ooquistes esporulados presentes en el ambiente y/o por consumo de quistes tisulares. En la región patagónica se encuentran poblaciones silvestres de visón americano (*Neovison vison*), especie originaria de América del Norte y categorizada como exótica invasora en Argentina. En nuestro país aún no se ha evaluado por métodos moleculares la presencia de *T. gondii* en esta especie, sin embargo, existe un estudio que ha determinado una seroprevalencia de 26,4% para *T. gondii* y del 3,4% para *N. caninum*, parásito protozoario estrechamente relacionado a *T. gondii*³. En el marco de Una Salud, el estudio de las parasitosis mencionadas en esta especie invasora, permitiría conocer la situación epidemiológica del ambiente, y proponer medidas sanitarias colaborando a su prevención. El objetivo del presente trabajo fue evaluar por métodos moleculares la presencia de *T. gondii* y *N. caninum* en muestras de visones provenientes de la provincia de Neuquén, Argentina.

Materiales y métodos. Durante el año 2019 se tomaron muestras de 18 visones sin signos clínicos de enfermedad (16 adultos: 14 machos y 2 hembras, y una hembra subadulta y otra joven) en dos sitios de la provincia de Neuquén: CEAN (39° 54' 58.06" S 71° 6' 25.02" W) en Junín de los Andes ($n=14$) y Reserva Natural Urbana Cotesma (RNUC) (40° 7' 31.25" S 71° 16' 45.88" W) en San Martín de los Andes ($n=4$). Utilizando trampas de captura viva, los visones fueron anestesiados y luego sacrificados (Protocolo CICUAL:2020-028). En la necropsia se tomaron muestras de cerebro y pulmón que fueron conservadas a -20°C. Se realizó un homogenato con el fin de obtener una muestra representativa de cada órgano y utilizando el kit comercial Wizard Genomic DNA Purification Kit (Promega) se extrajo ADN de los tejidos siguiendo las recomendaciones del fabricante. Se utilizó el par de primers específicos TOX5/TOX8 y Np6+/Np21+ para la detección por PCR convencional de *T. gondii* y *N. caninum*, respectivamente. Los productos amplificados se revelaron en un gel de agarosa

al 1,5% con SYBR safe (Invitrogen, EE.UU.). La lectura se realizó con un transiluminador de luz azul (Safe Imager™, Invitrogen, EE.UU.). Se observó la detección de bandas de 450 bp y 337 bp de *T. gondii* y *N. caninum*, respectivamente, tomando de referencia el marcador de peso molecular de 100 bp.

Resultados. Se detectó ADN de *T. gondii* en 11% (2/18) de los cerebros de visones analizados. Ambas muestras positivas corresponden a ejemplares adultos, un macho y una hembra, capturados en la RNUC. También se evaluaron los pulmones de esos ejemplares, resultando negativos para ambos parásitos. No se identificó la presencia de ADN de *N. caninum* en ninguno de los tejidos analizados.

Discusión y conclusión. La detección molecular de *T. gondii* en tejido nervioso indica que los visones se infectaron, sugiriendo que el ambiente podría estar contaminado con ooquistes y/o que hubieran adquirido la infección a partir del consumo de presas infectadas debido a su dieta omnívora. Si bien hay un reporte de serología positiva para *T. gondii* en visones en las provincias de Buenos Aires y Santa Cruz, la infección no fue determinada por métodos diagnósticos moleculares³. La ausencia de ADN de *N. caninum* en las muestras analizadas no descarta la posibilidad de infección en estos mamíferos exóticos, ya que es necesario evaluar mayor cantidad de animales. Este trabajo es el primer reporte de detección molecular de *T. gondii* en Argentina, sumándose a reportes en otros países^{1,2}. Se realizarán estudios de caracterización para determinar el genotipo de *T. gondii* presente en esta especie silvestre.

Agradecimientos. A los guías Ricardo Nogara, Karina Bolzon y Juan Salguero por la colaboración en el proceso de trampeo de la RNUC. Al Sr. Isidoro Ercoli del LAINPA por la asistencia técnica.

Bibliografía

- 1- Jones, YL y col. 2006. Toxoplasmosis in a free-ranging mink. Journal of wildlife diseases. 42:865-869.
- 2- Barros, M y col. 2018. *Toxoplasma gondii* infection in wild mustelids and cats across an urban-rural gradient. Public Library of Science one. 13:e0199085.
3. Martino, PE y col. 2017. Serology and protein electrophoresis for evidence of exposure to 12 mink pathogens in free-ranging American mink (*Neovison vison*) in Argentina. The Veterinary Quarterly. 37:207-211.60-65.

P9-ESTRUCTURA Y DINÁMICA POBLACIONAL DE CARACOL *LYMNAEA* EN PRECORDILLERA DE RÍO NEGRO, PATAGONIA

P. Soler¹; M. Larroza¹

¹Grupo de Salud Animal - INTA Bariloche. soler.paula@inta.gob.ar

Introducción. La fasciolosis es una zoonosis de distribución mundial producida por el trematode digeneo *Fasciola hepatica* (Fh). Es considerada de gran importancia en los rumiantes domésticos, especialmente en bovinos y ovinos¹. El ciclo biológico de Fh es complejo y requiere la presencia del hospedador intermediario, el caracol *Lymnaea* sp. El objetivo de este trabajo fue caracterizar la estructura y dinámica poblacional, y el porcentaje de infestación con Fh de caracoles lymnaeidos en un área endémica de la Provincia de Río Negro.

Materiales y métodos. El estudio se realizó en el valle del Río Manso, Río Negro (-41.59 S-71.58 O), en una zona de pastoreo de ovinos y bovinos con antecedentes de fasciolosis crónica. Se realizaron muestreos mensuales de caracoles *Lymnaea* desde octubre de 2019 hasta julio de 2021. Los caracoles fueron recolectados en 5 zonas predeterminadas en los cuerpos de agua, mediante captura por remoción a tiempo fijo². En cada zona se registró temperatura, Ph del agua y temperatura ambiental. Los caracoles se midieron bajo la lupa (en mm) por el largo de la valva, categorizando los tamaños en pequeños (0 a 4 mm), medianos (> 4 mm – 7 mm) y grandes (> de 7 mm). Cada ejemplar se analizó por la técnica de aplastamiento, determinando la presencia de formas larvianas de Fh.

Resultados. Durante el período estudiado se colectaron 1428 caracoles *Lymnaea*. Los meses con mayor cantidad de caracoles recolectados fueron febrero (199) y marzo (198) del año 2020, enero (291) y febrero (214) del año 2021. La menor cantidad de caracoles recolectados fue 2 en los meses de julio de ambos años. El aumento de recolección de caracoles corresponde a los meses que presentaron mayor temperatura media ambiental. Las medidas registradas de los caracoles fueron entre 2 y 12 mm. En todos los muestreos, la mayoría de los caracoles eran clasificados en el tamaño mediano. La prevalencia de Fh encontrada en caracoles fue de 12,5% en noviembre de 2019, 8% febrero y 31,8% en marzo 2020, y de 12,4% en enero y 18,2% en febrero 2021. Durante el muestreo las temperaturas ambientales medias registradas en verano fueron de 14,3 °C y en invierno media de 3 °C (Figura 1). El Ph promedio del agua en verano fue de 7,5 y de 6,1 en invierno.

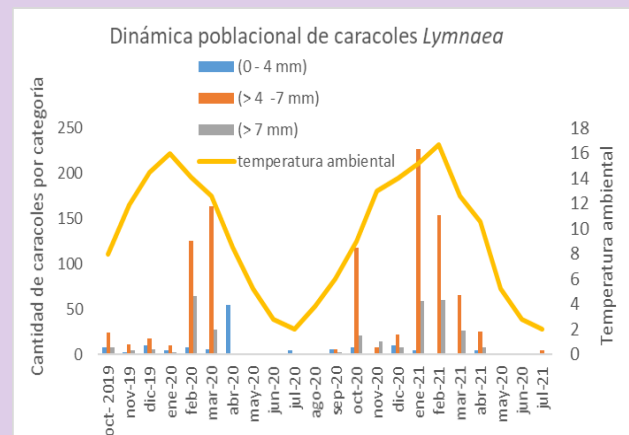


Figura 1. Recolección mensual de caracoles *Lymnaea* en el valle del río Manso.

Discusión y conclusión. Según estos resultados, la temperatura ambiental es condicionante en la dinámica poblacional del hospedador intermediario, y se relaciona directamente con el mayor riesgo de incidencia de infestación de *Fasciola hepatica*. Esto coincide con estudios previos realizados en la Patagonia, donde los factores ambientales incidieron directamente en el ciclo del parásito, influyendo su prevalencia en ambos hospedadores^{3,4}. Si bien los mayores incrementos poblacionales se registraron en los meses de enero, febrero y marzo, con predominio de tamaños considerados aptos para la liberación de cercarias (> 4 mm), el hallazgo de formas larvianas de Fh a partir del mes noviembre determina un mayor riesgo de infestación del ganado desde la primavera. El conocimiento de la dinámica poblacional, la localización y caracterización de los hábitats donde se encuentra el caracol, permite desarrollar un plan de manejo integral para el control de la fasciolosis en el ganado, considerando los aspectos epidemiológicos regionales.

Bibliografía

- 1- Hurtrez-Boussès, S. et al. 2001. Dynamics of host-parasite interactions: the example of population biology of the liver fluke (*Fasciola hepatica*). Microbes and Infection 3:841–849.
- 2- Rabinovich, J.E. 1980. Introducción a la ecología de poblaciones animales. México, Compañía Editorial Continental SA.
- 3- Olaechea, F. 2007. *Fasciola hepatica*. Ediciones INTA. Pp. 159-168.
- 4- Kleiman, F. et al. 2004. Southernmost finding of *Lymnaea viatrix* (Orbigny, 1835) (Pulmonata: Lymnaeidae), intermediate host of *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758) (Trematoda: Digenea), in urban and rural areas of Patagonia, Argentina. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 99, 23–24.

P10-PRIMER REPORTE MICROSCÓPICO Y MOLECULAR DE *Babesia vogeli* EN YERBA BUENA (TUCUMÁN) Y CONCORDIA (ENTRE RÍOS)

D. F. Eiras^{1,2,3}, M.V. Vazquez^{1,2,3}, J. J. Rivero^{3,4}, R.O. Sanchez⁵, G. Moré^{1,6}

¹Departamento de Epizootiología y Salud Pública, FCV, UNLP, Buenos Aires, Argentina. ²Laboratorio DIAP (Diagnóstico en Animales Pequeños), Banfield, Buenos Aires, Argentina. ³FAZ, UNT, Tucumán, Argentina. ⁴Clínica veterinaria Dr. Schwint, Yerba Buena, Tucumán, Argentina. ⁵Laboratorio ROSLAB, Concordia, Entre Ríos, Argentina. ⁶Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y técnicas (CONICET), Buenos Aires, Argentina. diegoeiras@fcv.unlp.edu.ar

Introducción La piroplasmosis canina es una enfermedad producida por protozoarios apicomplexa de los géneros *Babesia*, *Theileria* y *Rangelia* conocidos como piroplasmas. En el ciclo de estos parásitos intervienen las garrapatas como hospedadores definitivos y vectores de la infección. Existen distintas especies de piroplasmas que afectan al perro y en base a la morfología de los merozoítos intraeritrocitarios podemos distinguir entre piroplasmas grandes y pequeños en los extendidos sanguíneos coloreados. En el grupo de los piroplasmas grandes se encuentran *Babesia canis*, *B. vogeli*, *B. rossi* y *Rangelia vitalii*; mientras que en el grupo de los pequeños están *B. gibsoni*, *B. conradae*, *B. vulpes* n. sp., *B. negevi* n. sp. y *Theileria* sp. Para la diferenciación de especies resulta imprescindible la utilización de técnicas moleculares. La piroplasmosis clínica puede clasificarse como complicada o no complicada dependiendo de distintos factores como la especie involucrada, el estado inmunitario del paciente y las enfermedades concomitantes. En Argentina, la información sobre las especies de piroplasmas en perros es aún escasa. Hasta el momento se caracterizó la presencia de *B. vogeli* en caninos de Buenos Aires y Córdoba y *R. vitalii* en Entre Ríos y Misiones. También se reportó la presencia de *B. gibsoni* en dos perros de Buenos Aires. *Babesia vogeli* es la especie más extendida a nivel mundial, la transmisión es llevada a cabo por *Rhipicephalus sanguineus* s.l. y se caracteriza por producir una enfermedad leve a moderada, presentándose con debilidad, anorexia, mucosas pálidas, fiebre, esplenomegalia, anemia, trombocitopenia e ictericia. *Rangelia vitalii* es la única especie descrita hasta el momento en la región del NEA y se reconoce a *Amblyomma aureolatum* como vector. Este piroplasma se caracteriza por producir sangrado espontáneo en las zonas de piel fina, como el abdomen y el pabellón auricular. El hallazgo de merozoítos intraeritrocitarios mediante microscopía óptica en perros provenientes Yerba Buena (Tucumán) y de Concordia (Entre Ríos) motivan el presente trabajo de identificación molecular de los piroplasmas observados.

Materiales y métodos. Se estudiaron 2 caninos. El primero, de Yerba Buena (mestizo, macho, de 7 años), se presentó a la clínica con decaimiento, anorexia, fiebre, hepatoesplenomegalia y presencia de garrapatas. El segundo, (macho, de 1,5 años, sin datos de raza), se detectó en la rutina sanguínea de un laboratorio veterinario en Concordia. En ambos casos se observaron merozoítos intraeritrocitarios de tamaño grande en los extendidos sanguíneos coloreados. La sangre con EDTA se mantuvo a -18 °C hasta la realización de las pruebas moleculares. La extracción de ADN fue realizada con un sistema de columnas comercial a partir de 250 µl de sangre entera y fue sometido a 2 procedimientos moleculares: 1. *Nested*-PCR con *primers* genéricos para la amplificación de 673-684 (primera ronda) pares de bases (pb) y 346-356 pb (segunda ronda) del gen 18S del ARNr de los piroplasmas reportados en perros. El producto de la segunda ronda fue purificado y remitido para secuenciación al UGB (INTA-Castelar). Las secuencias obtenidas se analizaron con el *software* Geneious y los consensos se compararon con las secuencias depositadas en el GenBank. 2. PCR simple con *primers* BAB1-BAB4 específicos para el gen 18S, 5.8S y 28S del ARNr de *B. vogeli*. El producto de amplificación obtenido en ambos protocolos de PCR se sometió a electroforesis en gel de agarosa al 1.8 % con ECO-Gel y se observó con transiluminador de luz azul.

Resultados. Las bandas observadas en los procedimientos de PCR correspondieron con lo descrito para *Babesia vogeli*,

tanto en la ronda externa (684 pb) como en la ronda interna de la *nested*-PCR (356 pb). La banda observada en la amplificación de la PCR específica fue de 590 pb, en coincidencia con lo esperado para la misma especie. El consenso de las secuencias obtenidas tuvo un 99,7 - 100% de identidad con *B. vogeli* cuando se las comparó con secuencias de referencia (MK910150.1) depositadas en el GenBank mediante BLAST.

Discusión. El presente trabajo representa el primer reporte microscópico y la primera descripción molecular de *B. vogeli* en perros de Yerba Buena (Tucumán) y Concordia (Entre Ríos). La babesiosis canina producida por *B. vogeli* es una enfermedad cosmopolita que cursa muchas veces de manera inaparente o con escasa sintomatología. En Argentina, esta especie fue reportada en pocas provincias, pero muy probablemente esté difundida en la mayor parte de nuestro país debido a que *R. sanguineus* s.l. es la garrapata más prevalente en las zonas urbanas y suburbanas. El presente trabajo no solamente presenta la primera descripción molecular de *B. vogeli* en la Provincia de Tucumán, sino que además alerta sobre la posibilidad de encontrar piroplasmas de otras especies en la zona. Los reportes de *B. gibsoni* en Argentina corresponden a 2 caninos de la localidad bonaerense de Ezeiza, uno de ellos recogido en la provincia de Salta. Para esta especie se encuentra descrita la transmisión horizontal durante peleas por ingestión o contacto con sangre. En este caso se propuso que el perro se había infectado en la región del NOA y transmitió el parásito en una pelea con el perro que nunca había viajado. En Concordia, hasta el momento los hallazgos en caninos domésticos habían estado relacionados con la "rangelirosis" producida por el piroplasma *R. vitalii* en concordancia con la distribución del vector *A. aureolatum*. Si bien la rangelirosis posee signos característicos (sangrado espontáneo de las orejas), y los merozoítos sanguíneos pueden encontrarse también en los glóbulos blancos además de los eritrocitos, el presente reporte de *B. vogeli* en los perros de la misma zona representa un nuevo desafío para los veterinarios clínicos y de laboratorio cuando la infección es asintomática y se observan merozoítos solamente en los glóbulos rojos.

Conclusión. La piroplasmosis canina presenta manifestaciones inespecíficas comunes a otras enfermedades transmitidas por garrapatas, como ehrlichiosis, anaplasmosis o hepatozoonosis. Resulta de suma importancia para el diagnóstico de hemopatógenos en pequeños animales el entrenamiento de profesionales veterinarios de todo el país en la observación de extendidos sanguíneos para la aproximación diagnóstica, la detección de co-infecciones y la posterior caracterización de los agentes con técnicas de biología molecular.

Bibliografía

- Castilho Duarte, S. *et al.* 2008. Assessment of primers designed for the subspecies-specific discrimination among *Babesia canis canis*, *Babesia canis vogeli* and *Babesia canis rossi* by PCR assay. *Vet Parasitol.* 152:16–20.
- Criado-Fornelio A. *et al.* 2003. Molecular studies on *Babesia*, *Theileria* and *Hepatozoon* in southern Europe: Part I. Epizootiological aspects. *Vet Parasitol.* 113:189–201.
- Eiras, D.F. 2018. Aspectos diagnósticos y epidemiológicos de la piroplasmosis canina en áreas urbanas del sur del Gran Buenos Aires. Tesis doctoral. La Plata, Buenos Aires, Argentina.
- Rucksaken R. *et al.* 2019. Comparison of conventional polymerase chain reaction and routine blood smear for the detection of *Babesia canis*, *Hepatozoon canis*, *Ehrlichia canis*, and *Anaplasma* plays in Buriram Province, Thailand. *Vet. World.* 12:700-705.

P11-IDENTIFICACIÓN INMUNOPROTEÓMICA DE PROTEÍNAS SOLUBLES INMUNODOMINANTES DEL PROTOZOARIO *SARCOCYSTIS AUCHENIAE*

C. Decker Franco^{1,2}, S. N. Wieser^{1,2,*}, S. Romero³, P. de Alba^{1,2}, R. Mamani⁴, A. Ferrari^{2,5}, L. Schnitger^{1,2}, M. Florin-Christensen^{1,2}
¹Instituto de Patobiología Veterinaria, CICVyA, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA); ²Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET); ³Instituto de Investigación y Desarrollo Tecnológico para la Agricultura Familiar-NOA, INTA; Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Jujuy; ⁵Instituto de Estudios de la Inmunidad Humoral (CONICET-UBA), Argentina. *wieser.sarah@inta.gob.ar

Introducción. Los camélidos sudamericanos domésticos (CS) llama y alpaca constituyen el principal tipo de ganado en las regiones andinas del Noroeste de Argentina, Norte de Chile, Bolivia, Perú y Ecuador. Domesticados en tiempos pre-incaicos a partir de sus parientes silvestres, guanaco y vicuña. Además de la relevancia de los CS domésticos para la provisión y comercialización de fibra, su carne constituye una fuente importante de proteína animal para las comunidades rurales andinas. Esta carne es similar a la de otros herbívoros en su contenido proteico, pero tiene un contenido de colesterol reducido a casi el 50 % del de la carne bovina, lo cual la hace particularmente atractiva para la exportación a mercados internacionales. Una de las limitaciones para la producción y comercialización de la carne es la frecuente presencia de abundantes quistes macroscópicos en el músculo esquelético, que asemejan granos de arroz. El agente causal de esta parasitosis, conocida como sarcocistiosis de CS, fue identificado mediante técnicas moleculares como *Sarcocystis aucheniae* (Carletti *et al.*, 2013). El consumo de carne infectada insuficientemente cocida provoca cuadros de gastroenteritis, debido a una toxina peptídica producida por los parásitos. Los animales faenados son decomisados por las autoridades sanitarias ante el hallazgo de quistes, con las consecuentes pérdidas económicas para los criadores (Saeed *et al.*, 2018). Por estos motivos, el desarrollo de métodos que permitan controlar estas infecciones constituiría un aporte muy significativo para los criadores de CS. Este trabajo tuvo como objetivo la identificación de epitopes B específicos de especie presentes en proteínas solubles de *S. aucheniae*, reconocidos por sueros de llamas positivas para este parásito, para, en etapas posteriores, desarrollar un método de diagnóstico serológico para la sarcocistiosis de CS.

Materiales y métodos. Se obtuvieron muestras de suero de llamas de un matadero provincial de Jujuy, Argentina, destinadas al consumo. Luego de la faena, se inspeccionaron visualmente las carcasas y aquellas en las que se detectaron quistes de *S. aucheniae* fueron consideradas verdaderas positivas (n=43) y sus sueros fueron utilizados en los ensayos siguientes. Por otra parte, se separaron quistes de uno de los animales y se homogeneizaron por FastPrep-24 en presencia de PMSF. Las proteínas solubles se separaron de las proteínas de membrana mediante partición con TritonX-114 y se corrieron en geles de poliacrilamida preparativos en condiciones desnaturalizantes (SDS-PAGE). Las proteínas fueron transferidas a membranas de nitrocelulosa, las que fueron cortadas en tiras de 0,5 cm de ancho. Cada tira fue incubada con uno de los sueros verdaderos positivos o con sueros negativos a *S. aucheniae* previamente seleccionados en el laboratorio, en dilución 1:50. Luego de la incubación con un anticuerpo secundario anti-IgG de llama conjugado a peroxidasa y un sustrato colorimétrico, se identificaron las bandas inmunogénicas por aparición de color. Por otra parte, otra alícuota de proteínas de quistes fue corrida en SDS-PAGE, el cual fue teñido con colorante Brilliant Blue. Las bandas inmunogénicas más frecuentemente reconocidas por los sueros de llamas positivas fueron cortadas del gel teñido y analizadas por MS-MALDI. Los datos obtenidos del espectrograma de masas fueron analizados por BLAST contra un banco de datos del transcriptoma de *S. aucheniae*, resultante de un trabajo previo (Decker *et al.*, 2020).

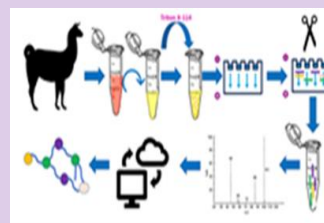


Fig. 1: Pipeline del procedimiento Los transcritos identificados fueron analizados *in silico* para la identificación de epitopes B (SVMTrip y BepiPred 2.0 sequential B-cell predictor), características físico-químicas (Expasy) y solubilidad en agua (PepCalc). Finalmente, se realizó un análisis de homología por BLASTp de los epitopes identificados, para seleccionar aquellos específicos para *S. aucheniae*. El pipeline seguido se muestra en la Figura 1.

Resultados. Se identificaron 7 bandas inmunoreactivas de 23, 29, 33, 38, 45, 53 y 77 kDa como las más reconocidas por los sueros de llamas infectadas con *S. aucheniae* (Figura 2). El análisis por MS y BLAST permitió identificar 45 transcritos, los cuáles fueron analizados *in silico*. Nueve de ellos representaban secuencias completas. Se encontraron en las proteínas correspondientes 41 epitopes B predichos por ambos programas utilizados. Luego, se eliminaron los epitopes conservados en otros parásitos que pueden infectar a CS, como *Toxoplasma*, *Neospora* y *Eimeria*, llegando de esta manera a 6 epitopes B. Todos ellos son hidrofílicos y solubles en agua.

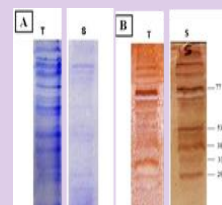


Fig. 2. Proteínas de quistes de *S. aucheniae* teñidas con Brilliant Blue (A) o reconocidas por sueros de llamas infectadas (B)

Conclusión. La inmunoproteómica es un campo de investigación relativamente nuevo que representa una interfaz entre la informática y la inmunología experimental y agiliza el proceso investigativo de fármacos, kits de diagnóstico y vacunas. En este trabajo, se logró aplicar esta metodología para la selección de epitopes B de *S. aucheniae* reconocidos por sueros de llamas infectadas naturalmente con el parásito. Estos epitopes se suman a otros ya identificados en proteínas superficiales ancladas a la membrana por puentes de glicosilfosfatidilinositol. Se encuentra en proceso el análisis de su conservación entre aislamientos geográficos de *S. aucheniae*. En etapas posteriores se realizará la síntesis química de péptidos conteniendo estos epitopes, que se anticipa serán hidrosolubles, lo que facilitará su utilización en el desarrollo de métodos de diagnóstico serológico para la sarcocistiosis de CS (Financiado por INTA PD I103).

Bibliografía

- Carletti, T. et al. 2013. Molecular identification of *Sarcocystis aucheniae* as the macrocyst-forming parasite of llamas. *Veterinary parasitology* 198.3-4:396-400.
- Saeed, M.A. et al. 2018. *Sarcocystosis* in South American camelids: The state of play revisited. *Parasites & vectors* 11.1:1-11.
- Decker Franco, C. et al. 2020. *In silico* identification of immunotherapeutic and diagnostic targets in the glycosylphosphatidylinositol metabolism of the coccidian *Sarcocystis aucheniae*. *Transboundary and Emerging Diseases* 67:165-174.

P12-DETECCIÓN DE UNA PRESUNTA NUEVA ESPECIE DE *HEPATOZOON* SPP. EN EUROPA CENTRAL

*Ganzinelli S^{1,2}, Hamšíková Z³, Foldvari G⁴, Szekeres S⁵, Schnittger L^{1,2}, Kazimírová M³

¹Instituto de Patobiología Veterinaria, IP-IPVET, CICVyA, INTA-Castelar, Los Reseros y Nicolás Repetto s/n, Hurlingham 1686;

²Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Buenos Aires, Argentina; ³Institute of Zoology, Slovak Academy of Sciences, Dúbravská cesta 9, Bratislava, Slovakia; ⁴Centre for Ecological Research, 1121 Budapest, Konkoly-Thege Miklós út 29-33; ⁵Veterinary University of Veterinary Medicine, Budapest. *ganzinelli.sabrina@inta.gob.ar

Introducción Los parásitos del phylum Apicomplexa, género *Hepatozoon* infectan una amplia gama de especies de vertebrados. El ciclo de vida de *Hepatozoon* spp. implica la reproducción sexual y la esporogonia en artrópodos, como por ejemplo pulgas, ácaros y piojos, que sirven como vectores y hospedadores definitivos; y merogonía seguida de gamogonía en hospedadores vertebrados intermediarios. Los artrópodos adquieren la infección al alimentarse de células sanguíneas infectadas con gametocitos del parásito. Los vertebrados no se infectan a través de la picadura de garrapatas o insectos, sino de la ingestión de artrópodos infectados (Rigó *et al.* 2016). El objetivo del presente estudio fue la caracterización molecular de *Hepatozoon* spp. aislado de pulgas y roedores de dos países de Europa Central: Hungría y Eslovaquia.

Materiales y métodos. Se extrajo el ADN genómico por medio de un kit comercial de pulgas (n = 6) y muestras de bazo y pulmón de roedores (n = 15; bazo = 10, pulmones = 5) de Hungría (ciudad de Gemenc) y del suroeste de Eslovaquia (ciudades de Fugelka y Bratislava). La amplificación de un fragmento de 660 pb del gen 18S ARNr del parásito *Hepatozoon* spp. se realizó utilizando los *primers* específicos descritos previamente (HepF 5'-ATACAT GAGCAA AATCTC AAC-3' y HepR 5'-CTTATTATTCCATGCTGCAG-3'; Inokuma *et al.* 2002). Los productos de PCR fueron enviados a secuenciar y analizados por nBlast (www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/) contra las secuencias de *Hepatozoon* depositadas en Genbank.

Resultados. El análisis molecular de las secuencias de un fragmento de 660 pb del gen 18S de ARNr amplificado mediante el uso de *primers* específicos confirmó la presencia de *Hepatozoon* spp. tanto en pulgas como en ratones. Se analizaron las secuencias provenientes de seis muestras de pulgas parasitando a los pequeños roedores, 5 especímenes de *Ctenophthalmus agyrtus* y uno de *Megabothris turbidus*. El análisis de las secuencias obtenidas mostró identidad entre ellas, y 100% de identidad con una secuencia de *Hepatozoon* sp. de sangre de *M. glareolus* en España (*Hepatozoon* sp. BV1 AY600626). Por otro lado, se analizaron las secuencias de 15 muestras pertenecientes a los pequeños roedores topillo rojo (*Myodes glareolus*) (n = 9) y en bazo y pulmones de un espécimen de ratón leonado (*Apodemus flavicollis*) (n = 1). En *M. glareolus*, se distinguieron dos variantes genéticas de *Hepatozoon* spp. en las muestras estudiadas (Tabla 1). Las secuencias de la primera variante *Hepatozoon* sp. BV1 fueron idénticas entre sí en cinco muestras de bazo y una de pulmón y mostraron 100% de identidad con una secuencia de *Hepatozoon* sp. de sangre de *M. glareolus* en España (*Hepatozoon* sp. BV1 AY600626). La otra variante, *Hepatozoon* sp. BV2 se identificó en cuatro aislamientos de bazo, y tres aislados de pulmones (Tabla 1). Mostró 100% de identidad con secuencias de *Hepatozoon* sp. de sangre de *M. glareolus* en España (*Hepatozoon* sp. BV2, AY600625). En dos especímenes de *M. glareolus*, se identificaron ambas variantes según las muestras de bazo y pulmón del mismo animal; mientras que en otros dos especímenes de *M. glareolus* se identificó una sola variante en ambos tejidos. Asimismo, la comparación de la secuencia identificada en bazo y pulmones de *A. flavicollis* mostró una identidad de sólo 99,32% con una secuencia de *Hepatozoon* sp. (KX4536361) proveniente de una serpiente de Arabia. Este hallazgo sugiere que se trata de un

nuevo, hasta el presente desconocido, aislamiento que designamos *Hepatozoon* sp. SF1.

Tabla 1: Identificación molecular de *Hepatozoon* sp. en roedores

Pais/ Localidad	Huesped	Tejido	Aislamiento
Eslovaquia/Fugelka	<i>A. flavicollis</i>	pulmón bazo	SF1 SF1
Eslovaquia/Fugelka	<i>M. glareolus</i>	bazo	BV2
Eslovaquia/Fugelka	<i>M. glareolus</i>	pulmón bazo	BV2 BV2
Eslovaquia/Fugelka	<i>M. glareolus</i>	pulmón bazo	BV1 BV1
Eslovaquia/Fugelka	<i>M. glareolus</i>	pulmón bazo	BV2 BV1
Eslovaquia/Fugelka	<i>M. glareolus</i>	pulmón bazo	BV2 BV1
Hungría/Gemenc	<i>M. glareolus</i>	bazo	BV1
Hungría/Gemenc	<i>M. glareolus</i>	bazo	BV2
Hungría/Gemenc	<i>M. glareolus</i>	bazo	BV2
Hungría/Gemenc	<i>M. glareolus</i>	bazo	BV1

BV1: *Hepatozoon* sp. BV1, BV2: *Hepatozoon* sp. BV2, SF1: nueva variante *Hepatozoon* sp. SF1, indicada con color

Discusión y conclusión. Los análisis de las secuencias de ADN derivadas de pulgas y roedores y su comparación con la base de datos GenBank reveló la presencia de las dos variantes genéticas, *Hepatozoon* sp. BV1 y BV2, que coexisten y las cuales fueron previamente detectadas en aislamientos de España, Eslovaquia, Hungría y Polonia (Criado-Fornelio *et al.* 2006; Hamšíková *et al.* 2016). La variante BV1 se detectó también en pulgas parasitando a los roedores muestreados, lo que indica que podrían servir como hospedadores definitivos de *Hepatozoon* spp. En el roedor *A. flavicollis* se detectó independiente en dos órganos, el pulmón y el bazo, una nueva misma variante que designamos *Hepatozoon* sp. SF1. Para verificar si este aislamiento representa una nueva especie, se llevarán a cabo estudios de filogenia molecular analizando su relación evolutiva y clasificación taxonómica en comparación con los aislamientos y especies ya descritos para este género.

Este trabajo fue financiado por el proyecto estructural INTA PE-1103.

Bibliografía

- Criado-Fornelio A., Ruas J.L., Casado, N. *et al.* 2006 J Parasitol.;92(1):93-9.
- Hamšíková Z, Silaghi C, Rudolf I, *et al.* 2016. Parasitol Res.;115(10):3897-904.
- Inokuma H, Okuda M, Ohno K, *et al.* 2002. Vet Parasitol.;106(3):265-71.
- Rigó K, Majoros G, Szekeres S, *et al.* 2016. Parasitol Res.;115(6):2409-13.

P13-TRYPANOSOMA VIVAX, PREVALENCIA DE INFECCIÓN POST BROTE EN DOS RODEOS LECHEROS DE LA ZONA CENTRAL DE LA PROVINCIA DE SANTA FE

Primo M.E.; Valentini, B.S.; Suarez Archilla G.; Abdala, A.
Laboratorio de Sanidad Animal de la EEA Rafaela, IdI Cal (INTA-CONICET). primo.maria@inta.gob.ar

Introducción. La tripanosomosis causada por *Trypanosoma vivax* es una enfermedad relativamente nueva en Argentina. Los primeros brotes en bovinos fueron reportados en Formosa en el año 2006 (Monzón *et al.*, 2008). En el verano-otoño del 2016/17, se confirmaron casos clínicos en los departamentos del centro de la provincia de Santa Fe y en el departamento San Justo de Córdoba, observándose ya algunos casos en tambos ubicados en el sur de ambas provincias. La transmisión de *T. vivax* se produce por acción de insectos hematófagos como la mosca brava (*Stomoxys calcitrans*) y los tábanos (*Tabanidae* sp) que actúan como transmisores mecánicos llevando sangre de animales infectados a susceptibles y por vía iatrogénica durante las vacunaciones y otras tareas ganaderas sin las debidas medidas higiénicas. En América Latina, a diferencia de lo observado en África, la transmisión transplacentaria de *T. vivax* parece tener relevancia epidemiológica (Osório *et al.*, 2008). La enfermedad cursa con abortos, hipertermia, diarrea, anemia, edema, linfadenitis, bajas ganancia de peso y producción de leche, pudiendo causar la muerte de un número importante de animales. El objetivo del trabajo fue determinar la prevalencia de *T. vivax*, a través de la detección de anticuerpos, en dos rodeos lecheros que cuatro años y un año antes habían sufrido un brote de tripanosomosis, luego del cual no volvieron a presentar casos clínicos.

Materiales y métodos. La prevalencia de anticuerpos contra *T. vivax* fue evaluada en la totalidad de las vacas adultas de dos rodeos que presentaron un brote de tripanosomosis en el pasado. Ambos rodeos están ubicados en el distrito Ataliva a una distancia de 2,6 km entre ellos. En el momento del brote, el diagnóstico se realizó por la técnica de microhematocrito y la observación del parásito en frotis finos coloreados con *Giemsa*, y la especie se confirmó por PCR (Fikru *et al.*, 2014). Para evitar la ocurrencia de muertes, en ambos rodeos, la totalidad de las vacas adultas fueron tratadas con Acetato de diminazene (7 mg x kg). El rodeo A (n = 225) fue evaluado 4 años después de reportado el brote y el rodeo B (n = 125) un año después. Las muestras de sangre se obtuvieron por punción de la vena coccígea. La determinación de anticuerpos contra *T. vivax* se realizó por inmunofluorescencia indirecta (IFI). Los *slide* fueron realizados con *T. vivax* purificados a partir de la sangre de un ternero esplenectomizado inoculado con 60 ml de sangre proveniente de un ternero portador del rodeo A. La IFI se realizó siguiendo el protocolo de Bassi *et al.* (2018). Las muestras que presentaron fluorescencia específica del parásito en dilución 1:80 fueron consideradas positivas (Fidelis Junior *et al.*, 2019). **Resultados.** Los resultados de las determinaciones serológicas se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1: Seroprevalencia de *T. vivax* en vacas adultas de dos rodeos lecheros, evaluados por IFI, a cuatro años (rodeo A) y un año (rodeo B) del brote.

	n	Positivos (%)	Negativos (%)
Rodeo A	252	54,3	45,7
Rodeo B	125	47,2	52,8

Discusión y conclusión. La seroprevalencia determinada en ambos rodeos, fue levemente inferior a la prevalencia del 66% obtenida por PCR por Florentín *et al.* 2021, en un muestreo

realizado en dos tambos de Santa Fe, entre los años 2017 y 2018. El rodeo A, durante el brote y como consecuencia del diagnóstico tardío, sufrió pérdidas importantes por muerte de animales y descarte de vacas. La reposición de los animales se realizó con vaquillonas y terneras propias que se criaron en el mismo establecimiento, lo que podría explicar la alta prevalencia de anticuerpos 4 años después del brote. El rodeo B presenta una prevalencia inferior al rodeo A, y la severidad del brote y las pérdidas por muerte y refugio fueron mínimas, debido a un rápido diagnóstico. En este caso solo transcurrió un año luego de brote inicial y hasta el momento no se han reportado nuevos casos clínicos. En los rodeos analizados, insectos hematófagos podrían ser los responsables de mantener la transmisión de *T. vivax* en las nuevas generaciones de hembras que se incorporaban al rodeo de vacas en producción. Este balance entre el rodeo y el parásito fue observado en rodeos de carne en regiones endémicas del norte argentino (Florentín *et al.*, 2021) y Brasil (García *et al.*, 2020). Este equilibrio donde no ocurren casos clínicos de enfermedad puede ser alterado por factores estresantes como días de elevado índice de temperatura y humedad ambiente (ITH) y excesos de lluvias que favorecen la multiplicación de insectos transmisores y condicionan la adecuada alimentación de la vaca lechera. Además, hay factores individuales como edad, preñez, lactancia y enfermedades concomitantes que hacen más susceptible al ganado lechero. La ocurrencia de brotes en estos dos rodeos, que se encuentran espacialmente cerca, pero entre los cuales no hubo intercambio de animales, sumado a la ocurrencia de brotes por *T. vivax* en otros rodeos de la zona, lleva a postular que la introducción de algún animal portador asintomático proveniente de la zona endémica del país en uno de los rodeos de la zona, unida a la acción de los insectos transmisores en los ambientes lecheros, facilitó la dispersión del parásito. La reciente introducción de *T. vivax* en la cuenca lechera central de Santa Fe, resalta la necesidad de contar con técnicas serológicas que permitan procesar un gran número de muestras en corto tiempo para la realización de estudios epidemiológicos y la identificación de animales portadores con el fin de controlar la diseminación del parásito hacia el sur de la Argentina.

Bibliografía

- Bassi *et al.* 2018. Parasitological and immunological evaluation of cattle experimentally infected with *Trypanosoma vivax*. *Experimental Parasitology* 185:98-106.
- Fikru *et al.* 2014. A proline Racemase based PCR for identification of *Trypanosoma vivax* in cattle blood. *Plos One* 9(1):1-7.
- Fidelis Junior *et al.* 2019. Comparison of conventional and molecular techniques for *Trypanosoma vivax* Diagnosis in experimentally infected cattle. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria* 28(2):203-9.
- Florenti *et al.* 2021. Molecular epidemiological insights into *Trypanosoma vivax* in Argentina: from the endemic Gran Chaco to outbreaks in the Pampas. *Transbound Emerg Dis.* 00 1-11.
- Garcia *et al.* 2020. High *Trypanosoma vivax* infection rates in water buffalo and cattle in the Brazilian Lower Amazon. *Parasitology International*, 79, 102162.
- Monzón *et al.* 2008. Primera descripción de *T. vivax* en Argentina. *Vet Arg* 25: 492-498.
- Osório *et al.*, 2008. *Trypanosoma* (Duttonella) *vivax*: its biology, epidemiology, pathogenesis, and introduction in the New World
- A Review. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 103(1):1-13.

P14-DINÁMICA DE LAS ENDOPARASITOSIS EN CAPRINOS DEL NORTE NEUQUINO Y SU RELACIÓN CON LAS PRÁCTICAS SANITARIAS

I. Centelles ¹, A. Martínez ², M. Larroza ²

¹Agencia de Extensión Rural, INTA Chos Malal, Neuquén, ²Grupo de Salud Animal - INTA Bariloche, Río Negro
centelles.ivan@inta.gob.ar

Introducción. La producción ganadera caprina de la provincia de Neuquén representa un recurso fundamental para satisfacer necesidades básicas de los pobladores (Mikuc, 2016). Si bien existen trabajos previos que evidencian la presencia de enfermedades de los animales de producción a nivel general en la provincia, la información respecto a las parasitosis en caprinos es escasa. El objetivo del presente estudio fue caracterizar la dinámica de las principales parasitosis internas en los caprinos de la zona centro noroeste de Neuquén y su relación con las medidas sanitarias aplicadas por los productores.

Materiales y métodos. Durante los meses de enero y febrero de 2019 se visitaron los campos de veranada de la comunidad Huayquillan, paraje Colipilli, Neuquén, con el fin de relevar el manejo sanitario que realizaban y los conocimientos que poseían los productores caprinos sobre distintas enfermedades del hato. Se realizó una encuesta CAP (conocimientos, actitudes y prácticas) a 79 familias productoras, con lo cual se registró el conocimiento y presencia de diferentes enfermedades parasitarias, la frecuencia con la que realizaban algún acto sanitario de manera preventiva o terapéutica, los productos antiparasitarios más utilizados, y el nivel de diagnóstico existente. Para el estudio de dinámica anual de las parasitosis gastrointestinales se seleccionaron 5 hatos de productores según antecedentes de uso de antiparasitarios: 2 hatos con antecedentes de desparasitación frecuente, y 3 hatos sin estos antecedentes. De cada hato se seleccionaron e identificaron 20 cabras. Durante un año, trimestralmente se tomaron muestras de materia fecal de los animales y se realizaron análisis de flotación para determinar la presencia de parásitos gastrointestinales mediante el conteo de huevos por gramo (HPG) y de sedimentación para determinar la presencia de *Fasciola hepatica* (Fh).

Resultados. De los datos obtenidos en las encuestas CAP, se evidenció el uso de antiparasitarios en el 78,7% de los productores, de ese total se evidencio que el 49.1 % usaba una combinación de triclabendazol e ivermectina, el 27.8% usaba triclabendazol únicamente y el 11.4% ivermectina únicamente. El restante 21.3% no realizaba ningún tratamiento antiparasitario en sus animales. Del total de productores que realizaban algún tipo de práctica sanitaria, el 100% consultaba a referentes sanitarios locales o idóneos del lugar. En ningún caso se realizaban análisis coproparasitológicos para evaluar la carga parasitaria existente antes de medicar y sólo el 25% realizaba alguna rotación de productos antiparasitarios cada dos ciclos productivos. En las Tablas 1 y 2 se presentan los resultados coproparasitológicos de HPG y *Fasciola hepatica* a lo largo del año productivo en establecimientos que realizan o no desparasitaciones frecuentes.

Tabla 1. Valores promedio (rango) de HPG a lo largo del año en hatos con y sin desparasitación frecuente.

	OTOÑO	INVIERNO	PRIMAVERA	VERANO
Sin Desp	16.1 (13-19)	20.7 (8-33)	4.8 (4-5)	6.8 (0-13)
Con Desp	19 (13-25)	4.1 (3-4)	6.6 (4-8)	0.9 (0-2)

Tabla 2. Porcentaje de animales positivos a *Fasciola hepatica* a lo largo del año en hatos con y sin desparasitación frecuente.

	OTOÑO	INVIERNO	PRIMAVERA	VERANO
Sin Desp.	19.9 (13-26)	36 (29-43)	18.1 (11-25)	15.1 (4-26)
Con Desp.	27.5 (15-40)	52.2 (44-60)	23 (11-35)	43.2 (31-55)

Discusión. Los valores de HPG fueron bajos en todo el año, sin encontrarse diferencias entre campos que realizan o no desparasitaciones frecuentes. Estos hallazgos indicarían que no serían necesarios realizar tratamientos con antiparasitarios para gastrointestinales en forma rutinaria. Sin embargo, el 60,5% de los productores utilizan ivermectina frecuentemente sin análisis coproparasitológico previo tratamiento. Este manejo antiparasitario genera gastos innecesarios por parte de los productores del Norte Neuquino y predispone a la generación de resistencia. En cuanto a *Fasciola hepatica*, se identificó que los porcentajes altos de animales positivos se mantiene a lo largo del año tanto en productores que realizan como los que no realizan tratamiento antiparasitario. Este hallazgo implicaría la necesidad de un examen más exhaustivo y detallado para controlar esta parasitosis, realizando estudios del ambiente, incorporando manejo de pastoreo, dosificación según peso, re dosificación según producto, chequeos post-tratamiento y rotación de principios activos.

Bibliografía

- Robles C.A. 2018. Estudio de conocimientos actitudes y prácticas. Comunicación Técnica.
- Olachea F.V. et al. 2011. Revisión de hallazgos parasitológicos en bovinos en Patagonia realizados en el Laboratorio de Parasitología de la EEA-INTA Bariloche 2005-2010. Asoc. Arg. Prod. Animal.
- Mikuc J.P. 2016. Procesos de intervención estatal en el marco del desarrollo rural. El caso del territorio de influencia de la Comisión de Fomento de Manzano Amargo, provincia de Neuquén. Tesis Maestría UBA.

P15-TRANSMISIBILIDAD DE LAS CEPAS DE *BABESIA BIGEMINA* Bbi M1A Y Bbi M1P POR UNA COLONIA DE *RHIPICEPHALUS MICROPLUS*: RESULTADOS PRELIMINARES

^{1,2} Pertile C., ¹ Sarmiento N., ¹ Wegrzyn L.¹

¹Instituto de Tecnología Agropecuaria (INTA) Estación Experimental Agropecuaria Mercedes, Corrientes., ² CONICET
pertile.carla@inta.gob.ar

Introducción. Existen diversos estudios publicados sobre transmisibilidad de cepas de *Babesia sp.* por *Rhipicephalus microplus*, (*R. m*) con resultados variables. Algunas cepas podrían haber perdido la capacidad de ser transmitidas por el vector¹. Otros estudios confirmaron el mantenimiento de la infectividad de cepas atenuadas por *R. m*.² Ciertas cepas atenuadas podrían conferir un margen de seguridad mayor, al no ser transmitidas por *R. m* y no revertir a la virulencia al menos después de dos pases sucesivos en bovinos³. El siguiente estudio tiene como objetivo analizar la transmisibilidad de la cepa de *Babesia bigemina* (*B.bi*) vacunal "Bbi M1A" y la cepa parental "Bbi M1P" por una colonia de *R. m* libre de hemoparásitos.

Materiales y métodos. El trabajo se realizó en 2 etapas. Se utilizaron 4 terneros (T) de 2 a 6 meses de edad provenientes de establecimientos libres de *R. m* y negativos para *Babesia sp.* Se utilizó la colonia de *R. m* L1 de INTA Mercedes libre de *Babesia sp.*

Etapas 1.

1. Dos T. no esplenectomizados, designados como 1 y 2, fueron infestados con 20000 larvas de *R. m* el día 0. El día 14, se inoculó por vía intravenosa con 1×10^7 de Bbi M1A al T 1 y el T. 2 recibió la misma dosis de Bbi M1P.

2. Se evaluaron diariamente hasta el día 13 posinoculación (Pi) por frotis sanguíneos y PCR.

3. Se recogieron 100 teleoginas repletas de cada T. en los días 20-25 y se las incubó en estufa a 27° C. para obtener larvas.

4. Se realizó examen de hemolinfa de las teleoginas, a partir del día 6 post recolección, disección de 30 teleoginas, de cada T. para posterior extracción de ADN de ovarios y glándulas salivales. Extracción de ADN de huevos y larvas.

Etapas 2. Una vez alcanzados 20 días de vida, 20000 larvas obtenidas de las teleoginas de los T. 1 y 2 fueron sembradas en T. esplenectomizados denominados 3 y 4, respectivamente. Se repitieron los pasos 2; 3 y 4 de la etapa 1.

Resultados.

Etapas 1: Ambos terneros desarrollaron infección, manifestando presencia de *B. bi* en extendido fino, confirmado por PCR. El

T.2, inoculado con Bbi M1P, fue tratado con diminazina el día 8 Pi. para preservar su vida. No fue necesario tratar al T. 1.

Se observaron vermículos de *B. bi* en hemolinfa en un 10% de las teleoginas provenientes de T.2. No se detectaron vermículos en hemolinfa de las teleoginas del T.1

Etapas 2: El día 15 post siembra de larvas, el T. 4 manifestó fiebre, anemia, hemoglobiuria y presencia de *B.bi* en los frotis. El diagnóstico se confirmó mediante PCR. El T. 3 no manifestó síntomas compatibles con babesiosis, tampoco se detectaron babesias en los frotis y la PCR de las muestras de sangre resultaron negativas a *B. bi*

Discusión y conclusión. Los resultados preliminares obtenidos brindan información acerca del comportamiento fenotípico de la cepa Bbi M1A en comparación a su parental Bbi M1P. Se pudo observar la transmisibilidad de la cepa Bbi M1P por una colonia de *R.m* mediante la infección de un ternero susceptible. Por el contrario, la cepa Bbi M1A no pudo ser transmitida por la colonia de *R. m* en la etapa 1 del ensayo ni se generó la infección del ternero susceptible en la etapa 2. Quedan por realizar más ensayos clínicos y moleculares con otras colonias de *R. m* y realizar más de un pasaje en terneros para obtener resultados concluyentes.

Bibliografía

1- Mafra, C.L., J.H. Patarroyo and S.S. Silva. 1994. *Babesia Bovis*: Infectivity of an Attenuated Strain of Brazilian Origin for the Tick Vector, *Boophilus Microplus*. *Veterinary Parasitology* 52(1-2):139-43.

2- Mangold, A.J., D.H. Aguirre, M.M. Cafrune, S.T. de Echaide and A.A. Guglielmone. 1993. Evaluation of the Infectivity of a Vaccinal and a Pathogenic *Babesia Bovis* Strain from Argentina to *Boophilus Microplus*. *Veterinary Parasitology* 51(1-2):143-48.

3- Rojas, E.E., J.J. Mosqueda, J.A. Álvarez, S. Aguilar, C. Rojas, R. Hernández, J.A. Ramos and C.A. Vega. 2011. Julio V Figueroa Centro. Transmisión de Cepas Atenuadas de *Babesia Bigemina* y *Babesia Bovis* Por Garrapatas *Rhipicephalus Microplus*.

PATOLOGÍA CLÍNICA

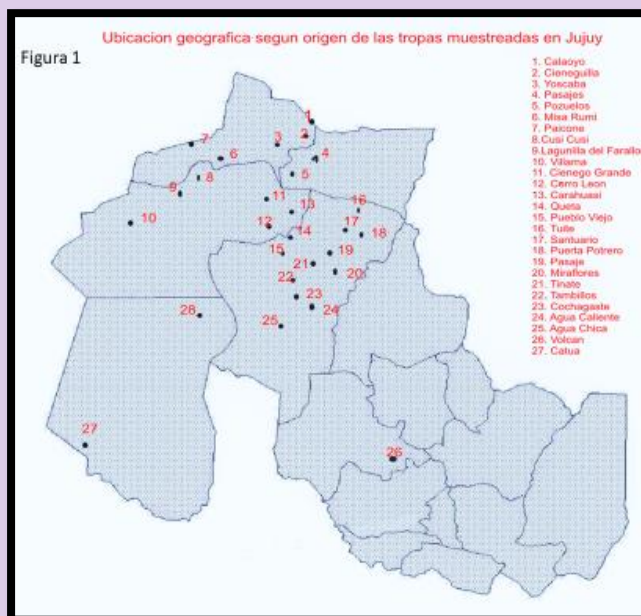
PC1-HEMATOLOGIA EN LLAMAS (*LAMA GLAMA*) DE LA PROVINCIA DE JUJUY

RE Marin¹, C Tapia¹

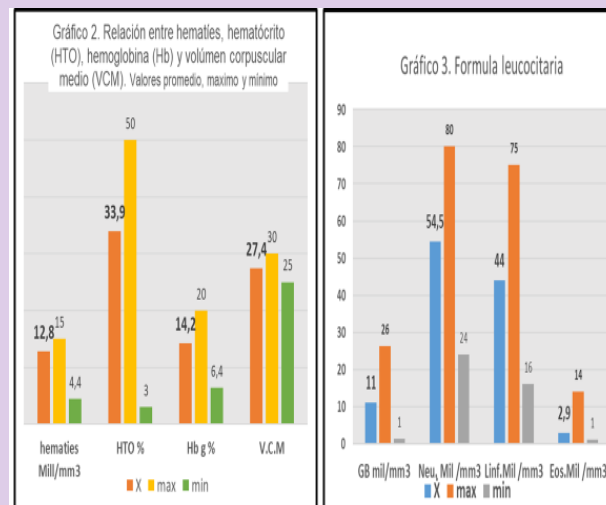
¹ Facultad de Ciencias Agrarias, Alberdi 47, 4600, Jujuy. Universidad Nacional de Jujuy, raulemarin@hotmail.com

Introducción. La cría y explotación de llamas (*Lama glama*) adquiere una gran importancia socio económica en el altiplano de la provincia de Jujuy, la cual posee la mayor población nacional de esta especie. La necesidad de lograr la sistematización productiva de la especie plantea el objetivo de establecer las variables sanitarias, identificando tanto las enfermedades de potencial impacto productivo, como parámetros de valoración clínica para la aplicación en la salud productiva de la especie.

Materiales y métodos. Durante 2007 y 2008 se muestrearon 297 llamas sin discriminación de sexo, mayores de 3 años de edad, de 28 localidades diferentes distribuidas en 6 departamentos provinciales y pertenecientes a 65 productores. Las tropas muestreadas son nativas y viven a más de 3000 metros de altura sobre el nivel del mar (msnm), salvo solo una que se encuentran a 1800 msnm (Figura 1). Todas las tropas muestreadas realizan un manejo típico de la región, en forma extensiva y con pastoreo natural sin racionamiento. Se muestrearon entre 5 y 10 animales por tropa por productor. Ningún animal presentaba signología clínica de ningún tipo y fueron elegidos al azar. Se obtuvo sangre mediante venopunción yugular y posteriormente colocada en tubos con anticoagulante, para medición de parámetros hemáticos mediante analizador hematológico automático.



Resultados. Los valores obtenidos de hematíes (MILL/mm³), hematocrito (HTO %), hemoglobina (Hb g %), volumen corpuscular medio (VCM um³), glóbulos blancos (GB mil/mm³), neutrófilos (Neu %), linfocitos (Linf %) y eosinófilos (Eos %) se muestran en la Figura 2 (gráficos 2 y 3), expresados como valores promedio y extremos.



Discusión. La información local y regional sobre parámetros hematológicos valoración clínica en llamas es muy escasa. Los resultados obtenidos son similares a los valores previamente publicados en otros países, y fueron obtenidos sobre un muestreo con una amplia cobertura geográfica y aportan datos de referencia, completando la información previa notificada (Marin, RE, 2011; Marin, RE et al., 2014), ya que estos mismos animales fueron evaluados serológicamente a diversos agentes infecciosos, tanto virales, parasitarios y bacterianos, coprología de endoparásitos, y medición de minerales y proteínas, otorgando de esa manera mayor objetividad de consideración de estos valores hematológicos como de referencia en la región. Sin embargo, se consideran necesarios estudios posteriores que relacionen estos valores en relación a niveles nutricionales, época del año y condición corporal.

Bibliografía

- Manual Merck de Veterinaria (2007). 6ta ed. español. Océano.
- Tallacagua Terrazas, R. y Mamani Tola, R. (2017) Determinación de los parámetros bioquímicos sanguíneos y hematología, en Llamas (*Lama glama*) en el Altiplano Central, La Paz. *Apthapi* 3(3):693-701.
- Marin, R.E. (2009) Prevalencia sanitaria en llamas de la provincia de Jujuy. *Veterinaria Argentina* XXVI. N°259.
- Marin, R.E. et al. (2018) Minerales y proteínas en suero de llamas (*Lama glama*) de la provincia de Jujuy. *Veterinaria Argentina* Vol. XXXV N° 366

Figura 2. Gráficos 2 y 3

PC2-EVALUACIÓN DE INDICADORES TEMPRANOS DE LESIÓN RENAL EN PERROS CON ENFERMEDAD VALVULAR MITRAL CRÓNICA (EVMC). RESULTADOS PRELIMINARES

S. Babini ⁽¹⁾; J. Arri ⁽¹⁾; G. Cabral ⁽¹⁾; S. Rossi ⁽¹⁾; A. Bessone ⁽¹⁾; G. Bernardes ⁽¹⁾

⁽¹⁾ Dpto. Clínica Animal, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto
srossi@ayv.unrc.edu.ar

Introducción. Los sistemas cardiovascular y renal interaccionan en forma compleja para regular la presión sanguínea, tono vascular, diuresis y la homeostasis del volumen intravascular. En los perros las enfermedades cardíacas y renales presentan una alta tasa de morbilidad y mortalidad. Algunas enfermedades cardíacas pueden manifestar azotemia en el 7.4 a 24.1% de los perros. Un estudio realizado por Martinelli *et al* (2016) reportó que el 25% de los caninos con enfermedad renal crónica (ERC), con azotemia, se relaciona también a enfermedad valvular mitral crónica (EVMC).⁽⁴⁾ En perros la EVMC es la cardiopatía adquirida más frecuente, y su complicación es la ERC. En 2015 un consenso, entre médicos veterinarios cardiólogos y nefrólogos, definió el desorden del eje cardiovascular-renal (DCR) como el daño estructural y/o funcional del riñón y/o sistema cardiovascular, que interrumpe las interacciones de uno o ambos.⁽⁵⁾ Los animales de mayor edad con enfermedad cardiovascular tienen mayor riesgo de desarrollar una ERC y DCR.⁽⁶⁾ La forma práctica y económica de evaluar la función renal es mediante el dosaje de urea y creatinina (azotemia) en sangre, aunque resultan marcadores tardíos de daño renal. Es necesario recurrir a predictores sensibles y tempranos de estrés/lesión renal, como la medición de proteínas en orina. Excluidas las causas de proteinurias pre y post-renales, y si el sedimento urinario es inactivo, la misma se considera de origen renal. Las proteinurias renales constituyen un marcador temprano de enfermedad renal.^(1, 2) El dosaje de proteínas totales y albúmina séricas revisten importancia por la posibilidad de hipoproteinemias asociadas.⁽¹⁾ En 2019 International Renal Interest Society clasificó al paciente nefrótico según la creatinemia en: estadio 1: <1.4 mg/dl (no azotémico); estadio 2: 1.4-2.0 mg/dl (azotemia leve); estadio 3: 2.1-5.0 mg/dl (azotemia moderada); estadio 4: >5.0 mg/dl (azotemia severa). También se clasifica la relación proteinuria/ creatinina urinaria (UPC) como: no proteinúrico 0.2; proteinuria al límite: 0.2-0.5 y proteinúrico: >0.5.⁽³⁾ La valoración de microalbuminuria (MA) y la relación microalbúmina /creatinina urinaria (MU/CU), son también valiosos. La densidad urinaria (DU), expresa la capacidad del riñón para concentrar o diluir la orina.⁽¹⁾ En la ERC esta función se pierde, precede a la azotemia y remarca la importancia del urianálisis en el diagnóstico temprano. La proteinuria y la azotemia podrían incrementar en la EVMC. El daño renal secundario a EVMC en perros, no ha sido demostrado fehacientemente, aunque se sabe que la prevalencia es mayor en animales adultos, existiendo el interrogante de cuál ha sido la causa primaria. Los indicadores tempranos de disfunción renal permitirían prevenir alteraciones en el DCR. El objetivo general del presente trabajo es determinar la asociación entre la EVMC y lesión y/o disfunción renal en perros $\geq$ 5 años de edad, a partir de indicadores tempranos de laboratorio de lesión renal.

Materiales y métodos. A la fecha se estudiaron 13 perros $\geq$ 5 años de edad con EVMC: a) se elaboraron fichas clínicas y de laboratorio de cada paciente, b) se les realizó hemograma (Contador Hematológico GEO Mc Vet), c) bioquímica sanguínea (urea, creatinina, proteínas totales, albúmina, globulinas, relación alb: globulinas) y urinaria (creatinina, proteinuria, MA) con reactivos ad-hoc (espectrofotómetro Wienerlab 1600 DR Plus). Se calcularon las relaciones: proteína/creatinina urinaria (UPC) y microalbúmina/ creatinina urinaria (MU/CU) d) a cada animal se le realizó urianálisis completo utilizando tiras reactivas de química seca, la densidad se tomó con refractómetro clínico y se observó el sedimento.

Resultados preliminares. En los hemogramas no se observaron cambios relevantes. Respecto a los datos de bioquímica sanguínea se evidenció: disminución de proteínas totales y albúmina en 3 animales (23%) e incremento en otros 3 (23%); 6 pacientes (46%) mostraron aumento de urea y 2 perros (15,3%) de creatinina. En los datos de urianálisis se observó: 3 perros (23%) con densidad entre 1009 a 1011, 1 paciente (7,6%) con proteinuria (++) y sangre oculta (+), y 3 perros (23%) con

sedimento activo. La bioquímica urinaria evidenció: 13 perros (100%) con valores dentro de las referencias tanto en proteínas urinarias y MA, como así también en las relaciones UPC y MU/CU. Es importante destacar que en 2 de ellos los valores fueron en límites superiores.

Discusión y conclusión. La hipoproteinemia que se observó en 3 perros, coincidió con valores de UPC en límites superiores, lo que podría relacionarse a una pérdida de proteínas de origen renal. El incremento de urea que se observó en 4 perros se atribuye a causas extra renales. Los 2 perros con valores de urea y creatinina elevados en sangre (uno en estadio no azotémico y el otro con azotemia leve), presentaron sedimento urinario sin particularidades (inactivo), y tanto la proteinuria, como la micro-albuminuria y la UPC y MU/CU en límites superiores, pudiendo estar relacionado a un inicio de lesión renal asociado a EVMC, dentro del DCR. Por los resultados hallados hasta el momento, se acuerda con Martinelli *et al* (2016) que existe una asociación de azotemia y EVMC en aproximadamente el 25% de los perros. También coincidimos con Cortadellas, M.J. *et al.* (2012) en las ventajas de utilizar predictores sensibles de estrés renal o lesión temprana en pacientes con EVMC. La valoración de la proteinuria, MA, las relaciones UPC y MU/CU, y el urianálisis son técnicas de bajo costo y se pueden realizar en laboratorios sin complejidad. El reconocimiento y manejo de los cambios tempranos no adaptativos en la función renal, son relevantes para prevenir un mayor DCR. Es necesario hacer seguimiento de los pacientes y continuar con la investigación para ampliar la base de datos. Con estas herramientas los veterinarios clínicos pueden mejorar la calidad de vida y supervivencia del perro cardíopata con riesgo de desarrollar daño renal.

Bibliografía

1. Cortadellas, M.J.; Fernández-del Palacio (2012). Diagnosis and therapy of canine and feline chronic kidney disease (CKD). Part 1: patient evaluation. *Clinical Veterinary Small Animals*, 32 (4):215-223.
2. Di Bartola, S.P. (2005). Renal Disease: Clinical Approach and Laboratory Evaluation. En: Ettinger SJ, Feldman EC (eds). *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. 6º ed. Saint Louis, Elsevier Saunders:1716-1730.
3. International Renal Interest Society (2019). IRIS Staging og CKD modified 2019 http://www.iris-kidney.com/pdf/IRIS_Staging_of_CKD_modified.
4. Martinelli, C. *et al.* (2016). Preliminary Investigation of Cardiovascular-Renal Disorders in Dogs with Chronic Mitral Valve Disease. *Journal Veterinary Internal Medicine*;30:612–1618. Doi: 10.1111/jvim.14524.
5. Pouchelon, J.L. *et al.* (2015). Cardiovascular-renal axis disorders in the domestic dog and cat: a veterinary consensus statement. *J. of Small Animal Practice* 56:537-552. Doi: 10.1111/jsap.12387.

PC3-DESCRIPCION DE UN CASO CLÍNICO POR MORDEDURA DE YARARÁ EN UN CANINO EN LA COSTA DEL RÍO DE LA PLATA

Stornelli M C¹, Pintos M E¹, Arauz M S¹

1 Cátedra de Análisis Clínicos Veterinarios. Servicio Central de laboratorio del Hospital Escuela FCV UNLP
cstornelli@fcv.unlp.edu.ar

Introducción. El envenenamiento por serpientes venenosas es una urgencia médica, frecuente en algunas zonas del país. Según el Programa Nacional de Ofidismo, se registraron 850 casos anuales humanos, siendo en su gran mayoría producidos por víboras del género *Bothrops* sp. (yará).⁽¹⁾ Cuando ocurren crecidas o inundaciones en el noroeste del país, incrementa el número de serpientes observadas en las costas del Río de la Plata, por la invasión de plantas acuáticas del Litoral, debido a que las serpientes venenosas como yará o víbora de la cruz, viajan sobre camalotes. Este desplazamiento de ofidios hace que puedan registrarse accidentes tanto en personas como en mascotas cuando invaden el nuevo hábitat de las serpientes. Para que se produzca el hecho, a pesar del comportamiento agresivo de esta clase de ofidios, las personas o animales deberán pisar o molestar a la serpiente.⁽²⁾ El veneno de yará (*Bothrops* sp.) posee una gran cantidad de sustancias tóxicas. Entre los principales componentes se pueden mencionar la fosfolipasa A2, enzima con actividad trombínica y hemorraginas. Estos compuestos actúan en forma conjunta y causan reacción inflamatoria y necrosis en el sitio de mordedura. Se ha demostrado que el veneno de yará posee componentes capaces de inducir hemorragias y edema de gran magnitud. A nivel sistémico, el veneno causa trastornos en la coagulación, ya que posee enzimas semejantes a la trombina que consumen el fibrinógeno, este efecto se potencia por la acción de hemorraginas (metaloproteínas).⁽¹⁾ La nefrotoxicidad ocurre como consecuencia de la acción directa del veneno sobre los riñones, el shock hipovolémico y la ocurrencia de microcoágulos que afectan la circulación renal.⁽²⁾ El objetivo de este trabajo es describir el caso clínico de un paciente canino atacado por una serpiente del género *Bothrops*.

Materiales y método: descripción del caso. Un canino macho, mestizo, de 6 años de edad y 28 kg de peso, proveniente del destacamento de policía de La Balandra (zona costera del Partido de Berisso), fue llevado a un consultorio privado de la ciudad de La Plata, el propietario manifiesta que el perro había sido atacado por una yará. El paciente poseía dos orificios, en la mejilla izquierda y en la región frontal, sangrantes edematosos y muy dolorosos. A medida que transcurrieron las horas, el edema abarcó toda la cabeza y el paciente comenzó a deprimirse. Se realizó la extracción de sangre de la vena cefálica, se colocó la muestra en un tubo con anticoagulante EDTA, en otro tubo con anticoagulante citrato y en un tubo seco para la obtención de suero. Para la realización del hemograma se utilizó un contador celular automático Sysmex (KX-21). Para realizar el Tiempo de protrombina y Tiempo de tromboplastina parcial activada se usó reactivos de la marca Wiener® y para determinar urea, creatinina, y alanino

aminotransferasa (ALT), se utilizó un autoanalizador INCA y se usaron reactivos de Biosystem®.

Resultados. En el hemograma se observó leucocitosis sin desvío a la izquierda y el resto de los parámetros se mantuvieron dentro de los rangos de referencia para la especie. En el coagulograma se observó marcado incremento en el tiempo de protrombina, obteniéndose un valor de 30 segundos (rango de referencia en caninos: menor a 10 segundos). De esta forma se aproximó el diagnóstico de ataque por yará y uso racional del suero antiofídico, ya que, a diferencia de la especie venenosa, la falsa yará no causará alteraciones en la coagulación. Las determinaciones de urea, creatinina y ALT se mantuvieron dentro de los rangos de referencia para la especie. Se administró suero antiofídico (ampolla x 10 ml, de inmunoglobulinas que neutralizan 2,500 mg de veneno B-alternato y 1,500 mg de veneno B neweidi) vehiculado en solución fisiológica y una dosis única de dexametasona 0,5 mg/kg para prevenir una posible reacción anafiláctica y para tratar el proceso inflamatorio. El paciente respondió favorablemente, revirtiendo los signos a las pocas horas de administrado el mismo y normalizándose los parámetros del coagulograma. El edema fue el último signo en normalizarse, a las 48 h de implementado el tratamiento.

Discusión. Si bien los accidentes por mordedura de yará no son muy frecuentes en la costa ribereña del Río de La Plata, el número aumenta en relación con las lluvias intensas e inundaciones en el noroeste del país, es así que es importante conocer el manejo de los pacientes que sufren ataques por estas serpientes, realizar un diagnóstico rápido e implementar el tratamiento. Debemos recordar que el tiempo de fijación de toxinas es aproximadamente de 8 a 10 h; por lo que administrar, el suero antiofídico antes de este lapso mejora el pronóstico del paciente. Dentro de los factores que podrían haber influido en la rápida recuperación del paciente podemos mencionar, la rapidez con que pudo instaurarse el tratamiento, 4 h posteriores al ataque, el alto peso del perro (28 kg), que puede haber generado una alta tasa de dilución del veneno y el buen estado general del mismo. Por otra parte, el ataque ocurrió en verano, estación del año en la que las serpientes no poseen gran cantidad de veneno acumulado en las glándulas salivales ya que es el momento del año en el que se alimentan.

Bibliografía

- Cardozo, R.O.; Tarrago, N.M.; Severini, L.; Peralta, L.O.; Teibler, G.P. (2016) Restablecimiento de un canino tras mordedura de serpiente "yará" (*Bothrops* sp.) en Corrientes, Argentina. Rev vet 27(1):58-61.
- Gonzalez, C.R.; Nasello, W.D.; Pérez Gaudio, D. (2017) Mordedura de Yará en caninos, seguimiento y prevención de las complicaciones. FCV-UNCPBA. Tesina de la orientación Sanidad Animal. Agosto.

PC4-HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS EN BIOPSIAS GÁSTRICAS DE PERROS PORTADORES DE *Helicobacter* spp.

C Guendulain¹; M. Caffaratti¹; G. Bagnis²; B. Del Río³; S. Babini¹

¹Dpto. Clínica Animal, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto.

²Departamento Patología Animal, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto.

³Práctica privada clínica de pequeños animales. Río Cuarto. cguendulain@ayv.unrc.edu.ar

Introducción. Un motivo frecuente de consulta en la clínica de pequeños animales es el vómito crónico como signo de gastropatía crónica. El diagnóstico etiológico de estas gastropatías requiere, en la mayoría de los casos, de la exploración endoscópica y del estudio histopatológico de la biopsia obtenida de la mucosa gástrica. Las bacterias pertenecientes al género *Helicobacter* se han sugerido como factor etiológico de las gastritis crónicas, pero su rol en la patogenia de la enfermedad gástrica es debatido, debido a que se han encontrado perros infectados, pero sin signos clínicos evidentes y otros, en los cuales la infección va acompañada de signología digestiva.⁽⁶⁾ Por otra parte, se han detectado cambios histopatológicos en perros con signos digestivos, pero también en otros clínicamente sanos; sin embargo, se asume que, en pacientes con gastritis y vómito crónico, donde los cambios histopatológicos van acompañados de un gran número de bacterias, estas juegan un rol importante en la patogenia de la enfermedad.^(3,5) El objetivo de este trabajo fue relacionar la presencia de *Helicobacter* spp., las alteraciones histopatológicas en la mucosa gástrica y la presencia de signología clínica compatible, en perros atendidos en el Hospital Escuela de la FAV-UNRC.

Materiales y métodos. Se tomaron mediante endoscopia (videoendoscopio Storz) biopsias gástricas de cardias, fundus, cuerpo y antro pilórico a 30 perros con y sin signos digestivos, derivados al Servicio de Endoscopia o al Servicio de Cirugía de la FAV por diferentes motivos. Las muestras para el estudio histopatológico fueron teñidas con H/E y observadas con microscopio óptico Axiostar plus, Zeiss con aumento 1000X con aceite de inmersión en busca de estructuras con morfología y tamaño compatibles con *Helicobacter* spp. La cantidad de organismos se informó como: ausencia (no se observan), escasa cantidad (<10), moderada cantidad (10 a 50), abundante cantidad (> 50). La descripción de los hallazgos histológicos se realizó según la guía establecida por la Asociación Mundial de Veterinarios de Animales Pequeños (WSAVA).⁽²⁾

Resultados. El 100% de los perros estudiados resultó positivo a la presencia de estructuras compatibles con *Helicobacter* spp en la histopatología de las biopsias gástricas. Los resultados obtenidos se discriminaron teniendo en cuenta la signología clínica:

Perros con signos clínicos: alteraciones del epitelio 0/5 (0%); infiltración linfocitaria 5/5 (100%); infiltración de células plasmáticas 4/5 (80%); proliferación de tejido conectivo 5/5 (100%); hiperemia de mucosa 4/5 (80%); edema de mucosa 1/5 (20%) y hemorragia de mucosa 0/5 (0%)

Perros sin signos clínicos: alteraciones del epitelio 1/25 (4%); infiltración linfocitaria 25/25 (100%); infiltración de células plasmáticas 23/25 (92%); proliferación de tejido conectivo 24/25 (96%); hiperemia de mucosa 19/25 (76%); edema de mucosa 9/25 (36%) y hemorragia de mucosa 6/25 (24%).

Discusión. El hallazgo de bacterias de forma espiralada en todas las biopsias obtenidas es coincidente con lo descripto por la bibliografía^(3,4,5) En cuanto a la signología clínica, la bibliografía reporta que algunos perros presentan signos clínicos y otros no, tal lo sucedido en el presente trabajo.⁽³⁾ La mayoría de los perros tenían de moderada a abundante cantidad de bacterias y sólo unos pocos presentaban escasa

cantidad, esto en concordancia con otras investigaciones realizadas que indican que la cantidad de bacterias en la mayoría de los casos es de moderada a abundante, y que no hay diferencia en cuanto a la cantidad de bacterias encontradas en animales sanos y con enfermedad gastrointestinal.⁽⁴⁾ En el estudio histopatológico no se encontraron alteraciones del epitelio, lo cual no coincide con la bibliografía, que reporta este hallazgo como algo habitual.⁽⁵⁾ Amorim *et al.* (2015) encontraron además de infiltración linfocitaria, injuria epitelial gástrica de leve a moderada. La infiltración de células plasmáticas, la proliferación de tejido conectivo, la hiperemia, el edema y la hemorragia que se encontraron tanto en perros que presentaban signos clínicos como en los que no, fueron alteraciones similares a las encontradas por otros investigadores.⁽⁵⁾ Las células inflamatorias que se encontraron en la lámina propia fueron linfocitos, células plasmáticas y, en menor medida, neutrófilos y eosinófilos. Hubo en algunos casos hiperplasia de las células mucosas del cuello y, en otros, degeneración glandular. Estos hallazgos son similares a los de Hermanns *et al.* (1995), quienes encontraron que la degeneración glandular era generalmente acompañada por acumulación de linfocitos y, en menor grado, por la presencia de granulocitos neutrófilos. Los diferentes autores refieren presencia de linfocitos y de células plasmáticas y en la mayoría de los casos gastritis crónica leve ⁽⁵⁾, aunque en un estudio hecho por Happonen *et al.*, (1996) si bien todos los perros tuvieron gastritis crónica leve, en algunos se encontró gastritis activa leve, conjuntamente con gastritis crónica. Happonen (1996) sugiere que los neutrófilos no juegan un rol importante en la gastritis canina, lo cual coincide con nuestro trabajo, en el cual estas células fueron observadas en escasa cantidad. En acuerdo con estudios previos, las bacterias fueron observadas en el mucus superficial y dentro de las glándulas gástricas.^(1,4)

Conclusiones. La mayoría de los perros en este estudio eran clínicamente sanos, por consiguiente, pareciera que la presencia de bacterias no tendría significancia clínica en perros sanos, a pesar de la presencia histológica de gastritis crónica, por lo tanto, el grado de colonización no estaría directamente relacionado con los cambios histopatológicos, ni con la presencia de signos clínicos.

Bibliografía

- Amorim *et al.* (2015). Presence and significance of *Helicobacter* spp. in the gastric mucosa of portuguese dogs. *Gut Pathog.* 7(12):1-8.
- Day *et al.* (2008). *World Small Animal Veterinary Association Gastrointestinal Standardization Group*. Histopathological standards for the diagnosis of gastrointestinal inflammation in endoscopic biopsy samples from the dog and cat: a report from the World Small Animal Veterinary Association Gastrointestinal Standardization Group. *J Comp Pathol.* 138(1):1-43.
- Diker *et al.* (2002). The prevalence, colonization sites and pathological effects of gastric *Helicobacter* in dogs. *Turk J Vet Animal Sci.* 26:345-351.
- Happonen *et al.* (1996). Occurrence and topographical mapping of gastric *Helicobacter*-like organisms and their association with histological changes in apparently healthy dogs and cats. *J Vet Med A.* 43:305-315.
- Hermanns *et al.* (1995). *Helicobacter*-like organisms: histopathological examination of gastric biopsies from dogs and cats. *J Comp Pathol.* 112:307-318.

PC5-DETECCIÓN DE TEJIDO LINFOIDE EN MUCOSAS DE FÁCIL ACCESO DE CAPRINOS PARA SU APLICACIÓN EN EL DIAGNÓSTICO DE SCRAPIE

MJ Gallardo^{1,2}, V Bermejo^{1,3}, E Rodondo¹, C Moreno¹, G Francinelli¹, C Sánchez¹, F Balbiani¹, F Delgado¹

¹Instituto de Patobiología Veterinaria (UEDD INTA-CONICET), CICVyA, INTA; ²Cátedra de Enfermedades Infecciosas, FCV, UBA;

³EEA Anguil, INTA. gallardo.mauro@inta.gov.ar

Introducción. Las Encefalopatías Espongiformes Transmisibles (EET) son un grupo de enfermedades neurodegenerativas producidas por priones que afectan al ser humano y a diferentes especies animales. Son de curso crónico, tienen manifestaciones neurológicas y terminan invariablemente con la muerte de los individuos afectados, careciéndose a la fecha de un tratamiento. De todas las EET animales, Scrapie o Prurigo Lumbar que afecta a ovinos y caprinos es la de mayor difusión, reportándose el mayor número de casos nuevos por año, y genera barreras comerciales para pequeños rumiantes. En la Argentina no se han identificado casos de Scrapie ni de otras EET animales pero funciona un sistema de vigilancia epidemiológica para estas enfermedades, el "Programa Nacional de Prevención y Vigilancia de las EET de los animales". El diagnóstico de las EET se basa en la detección post mortem de la proteína priónica anómala (PrP^{Sc}) mediante inmunohistoquímica, Western blot o ELISA. En el caso de Scrapie es posible el diagnóstico ante mortem de la enfermedad dada la particular acumulación temprana de PrP^{Sc} en tejido linfoide (TL). En este sentido, a diferencia de lo que ocurre con la Encefalopatía Espongiforme Bovina, Scrapie podría diagnosticarse en animales vivos durante el periodo temprano de incubación de la enfermedad que suele ser mayor a un año, e incluso antes de que sea detectado en el sistema nervioso central. La PrP^{Sc} se acumula en los folículos linfoides de tonsilas, ganglios linfáticos y organizaciones linfáticas presentes en mucosas. Por su fácil acceso, se ha propuesto la detección de PrP^{Sc} en el TL del tercer párpado, evaluándose también la detección en biopsias de mucosa rectal.^[1, 2] Las muestras de mucosa se consideran aptas para este tipo de diagnóstico cuando presentan 6 folículos linfoides o más.^[1] El objetivo de este trabajo fue determinar la aptitud diagnóstica de muestras de mucosa rectal y conjuntiva de tercer párpado de caprinos para su aplicación en el diagnóstico ante mortem de Scrapie. Esto sería de importancia al momento de evaluar la utilidad del diagnóstico ante mortem de Scrapie en el marco de un programa de vigilancia o prevención.

Materiales y métodos. Durante la necropsia de 49 caprinos se obtuvieron muestras de tercer párpado y mucosa rectal. Se extrajo el tercer párpado completo el cual fue seccionado longitudinalmente a izquierda o derecha del eje medio, lugar donde se ubica el tejido linfoide asociado a esta conjuntiva.^[1] Para la mucosa rectal se tomaron muestras aproximadamente a 2 cm craneal a la línea rectoanal con pinza y tijeras. Todas las muestras se conservaron en formol bufferado al 10% hasta su procesamiento. Una vez fijadas, las muestras fueron incluidas en parafina y se obtuvieron secciones de 3 µm de espesor para su coloración con hematoxilina y eosina, siguiendo procedimientos de rutina. La presencia de TL se evaluó mediante observación microscópica de las muestras obtenidas de tercer párpado y mucosa rectal. Se realizó un estudio microscópico de las preparaciones obtenidas, contabilizando el número de folículos linfoides presentes en cada una de las muestras.

Resultados. En 24 de las muestras de mucosa de tercer párpado (49,0%) y en 31 de las muestras de mucosa rectal (63,3%) se encontraron 6 o más folículos linfoides.

Discusión. La aptitud diagnóstica de las muestras de mucosa de tercer párpado no concuerda con lo reportado por otros autores que observaron que aproximadamente el 80% de las muestras eran aptas para el diagnóstico^[3] mientras que nosotros obtuvimos un 49% de muestras aptas. Esto podría deberse a que nuestros resultados se obtuvieron principalmente de animales menores de 2 años mientras que los individuos evaluados en otros trabajos eran de diversas edades.^[3] Las muestras que poseen escaso o nulo desarrollo de folículos en el tercer párpado pertenecen a animales menores de 2 años. Respecto a la mucosa rectal, los resultados obtenidos tampoco coinciden con los reportados

previamente. El desarrollo del TL podría depender de la edad, o su detección depender de la toma de muestras. Respecto a la edad, en este estudio se analizaron principalmente animales jóvenes, lo cual podría explicar las diferencias. Respecto al área de muestreo, las muestras se colectaron siguiendo los procedimientos descritos previamente,^[2] 2-3 cm craneal a la línea recto-anal. Otros estudios realizados en ovinos y cérvidos señalan que la muestra ideal debe tomarse de 0 a 1 cm a partir del inicio de la mucosa.^[4,5] Debido a que no hay información concisa sobre TL asociado a mucosa rectal de caprinos, y a que no se ha evaluado la variable edad respecto del desarrollo de este tejido en tercer párpado y recto, se prevé realizar estudios adicionales.

Conclusiones preliminares. Se detectó TL asociado a mucosas de tercer párpado y mucosa rectal de caprinos y se determinó si eran aptas para el diagnóstico ante mortem de Scrapie. Las muestras de mucosa rectal demostraron una mayor aptitud diagnóstica que las de tercer párpado, pero aun así no se ajustan a los resultados de otros autores. Se prevé ampliar el rango etario de los animales muestreados e incluso modificar el lugar de la toma de muestra en el caso de la mucosa rectal

Bibliografía

- O'Rourke, K.I., Baszler, T.V., Besser, T.E., Miller, J.M., Cutlip, R.C., Wells, G.A.H., Ryder, S.J., Parish, S.M., Hamir, A.N., Cockett, N.E., Jenny, A. & Knowles, D.P. (2000) Preclinical Diagnosis of Scrapie by Immunohistochemistry of Third Eyelid Lymphoid Tissue. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(9):3254–3259.
- Espenes, A., Press, C., Landsverk, T., Tranulis, M.A., Aleksandersen, M., Gunnes, G., Benestad, S.L., Fuglestad, R. & Ulvund, M.J. (2006) Detection of PrP^{Sc} in Rectal Biopsy and Necropsy Samples from Sheep with Experimental Scrapie. *Journal of Comparative Pathology*, 134(2–3):115–125.
- Monleón, E., Garza, M.C., Sarasa, R., Álvarez-Rodríguez, J., Bolea, R., Monzón, M., Vargas, M.A., Badiola, J.J. & Acín, C. (2011). An assessment of the efficiency of PrP^{Sc} detection in rectal mucosa and third-eyelid biopsies from animals infected with scrapie. *Veterinary Microbiology*, 147(3–4):237–243.
- Gonzalez, L., Dagleish, M.P., Martin, S., Dexter, G., Steele, P., Finlayson, J. & Jeffrey, M. (2008). Diagnosis of preclinical scrapie in live sheep by the immunohistochemical examination of rectal biopsies. *Veterinary Record*, 162(13):397–403.
- Keane, D., Barr, D., Osborn, R., Langenberg, J., O'Rourke, K. I., Schneider, D. & Bochsler, P. (2009). Validation of Use of Rectoanal Mucosa-Associated Lymphoid Tissue for Immunohistochemical Diagnosis of Chronic Wasting Disease in White-Tailed Deer (*Odocoileus virginianus*). *Journal of Clinical Microbiology*, 47(5):1412–1417.

PATOLOGÍA Y TOXICOLOGÍA

PT1-INTOXICACIÓN NATURAL POR *ASTRAGALUS PUNAE* EN LLAMAS (*LAMA GLAMA*) DE JUJUY

RE Marin ¹, FA Uzal ², DR Gardner ³, AG Armien Medianero ², RH Fortunato ⁴, ND Vignale ¹

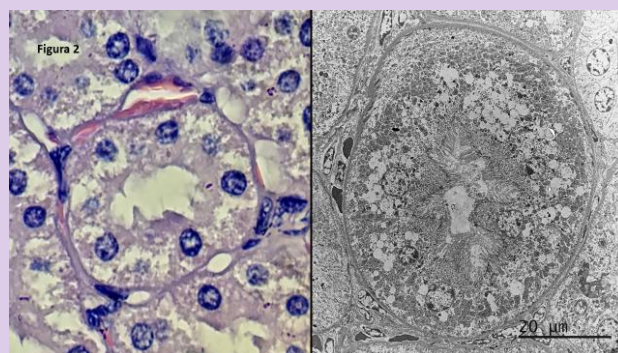
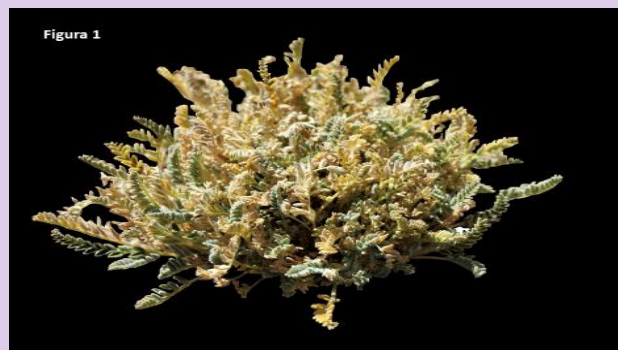
¹Facultad Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Jujuy, Argentina; ²California Animal Health and Food Safety Laboratory System, Universidad de California, Davis ³USDA/ARS Poisonous Plant Research Laboratory, Logan, Utah, ⁴ Centro de Investigaciones de Recursos Naturales, CICVyA. INTA Castelar. raulemarin@hotmail.com

Introducción. Las enfermedades por almacenamiento lisosomal son un grupo de trastornos hereditarios y adquiridos caracterizados por lisosomas disfuncionales, produciendo acumulación intracitoplasmática de sustratos no degradados, alteración y muerte celular. Las enfermedades adquiridas por almacenamiento lisosomal, ocurren debido a la ingestión de plantas que contienen swainsonina (SW) produciendo una alfa mannosidosis adquirida, debido a su capacidad para inhibir la α -mannosidasa lisosómica y α -mannosidasa II de Golgi, y se han descrito asociadas a especies del género *Astragalus*, *Sida*, *Oxitropis*, *Swainsona*, e *Ipomoea* siendo económicamente importantes para el ganado. Aproximadamente 70 especies de *Astragalus* son nativas de Argentina, donde la intoxicación natural por *Astragalus pehuenches* fue descrita en ovinos y bovinos en la región de la Patagonia, y *Astragalus garbancillo* en ovejas y llamas (*Lama glama*) en el noroeste argentino. En este trabajo presentamos el primer reporte de una nueva especie tóxica de *Astragalus* afectando a llamas en Jujuy.

Materiales y métodos. A finales del otoño de 2019, se visitó un pequeño productor cerca de la localidad de El Toro, departamento de Susques (región Puna), a 4.012 m sobre el nivel del mar, el cual tenía una tropa de 124 llamas en pastoreo natural con abundancia de una maleza denominada mulato. Al momento de la visita se observó cuatro llamas adultas con ataxia leve con curso clínico de aproximadamente 15 días. Se extrajo sangre completa y suero para análisis hematológicos de una llama afectada, realizándose posteriormente la eutanasia para estudios posmortem y toma de muestras de tejidos conservadas en formol para estudios histopatológicos y de microscopía electrónica. Además, Se recolectaron especímenes de plantas de *mulato* en etapa de fructificación, para identificación botánica. En otoño de 2020 se recolectaron nuevamente plantas para identificación de SW mediante cromatografía líquida de alta resolución en fase inversa acoplada a espectrometría de masas en tándem de ionización química a presión atmosférica.

Resultados. Los análisis hematológicos no revelaron anomalías y no se identificó vacuolización citoplasmática en los monocitos circulantes en los frotis de sangre periférica. Los especímenes de *mulato* fueron identificados como *Astragalus punae* I. M. Johnst. (Figura 1) y registrados en herbario BAB N° 97039. N° de digitalización: BAB00010832, mientras que la concentración de SW obtenida en *A. punae* fue de 0.06%. La necropsia reveló mal estado nutricional, con escasas reservas de grasa subcutánea y abdominal, sin otros cambios macroscópicos significativos. Los cambios histológicos consistieron en fina microvacuolización citoplásmica multisistémica. En el riñón los cambios fueron más marcados, afectando principalmente al epitelio de los túbulos contorneados proximales, mientras que la microscopía electrónica demostró vacuolas rodeadas de membrana multifocales en el citoplasma de esas células. (Figura 2)

Conclusiones. Las lesiones renales observadas en este caso son compatibles con enfermedad de almacenamiento lisosomal, mientras que los niveles de swainsonina en las muestras de plantas analizadas fueron superiores al nivel mínimo establecido para producir daño (0,001%) cuando las plantas se consumen durante un período de tiempo suficiente.



Los cambios renales parecen ser las lesiones más tempranas asociadas con intoxicación por SW, y estudios previos indican que el epitelio folicular tiroideo y de los túbulos contorneados proximales renales exhiben degeneración vacuolar a dosis de $\geq 0,1$ mg / kg; mientras que en el resto de órganos ocurre con dosis más altas. El productor informa que anualmente se presentan signos clínicos similares en 3-5% del rebaño, observando que al principio los animales comienzan a ganar peso, pero desde que comienzan los signos clínicos, y a pesar del consumo compulsivo de la planta, comienzan a perder peso corporal y rara vez mueren de forma natural, debiendo eventualmente ser sacrificados coincidiendo con otros productores entrevistados en la región. El diagnóstico de intoxicación por *A. punae* está basado en signos clínicos, lesiones microscópicas y ultraestructurales, abundancia de *A. punae* en el área de pastoreo y determinación de swainsonina en especímenes vegetales. Este es el primer reporte de intoxicación por *Astragalus punae* en animales domésticos.

Bibliografía

- Chenchen, W. et al. (2014) Pathogenesis and preventive treatment for animal disease due to locoweed poisoning. Review. Environ Toxicol Pharmacol, 37:336-47.
- Cook D, et al. Screening for swainsonine among South American *Astragalus* species. Toxicon 2017; 139:54-57
- Gardner DR, et al. Analysis of Swainsonine: Extraction Methods, Detection, and Measurement in Populations of Locoweeds (*Oxytropis* spp.) J Agri Food Chem 2001;49: 4573-80.

PT2-INTOXICACIÓN EN CAPRINOS POR CONSUMO DE FARDOS CONTAMINADOS CON *PASCALIA GLAUCA* EN JUJUY

RE Marin ¹

¹Facultad Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Jujuy, Argentina. raulemarin@hotmail.com

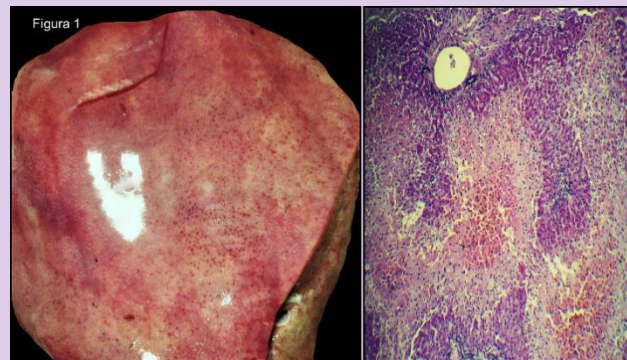
Introducción. *Pascalía glauca* (sin. *Wedelia glauca*), comúnmente conocida como "sunchillo" o "Yuyo sapo", es una planta nativa de América del Sur, y contiene atractilósido y carboxatractilósido que actúan inhibiendo la fosforilación oxidativa de las mitocondrias resultando en necrosis hepática centrolobulillar. Es una maleza invasora de cultivos, comúnmente alfalfa. Intoxicación natural por consumo por pastoreo, o por henos contaminados, y mediante reproducción experimental han sido comunicados en bovinos, ovinos, ciervos (ej. *Axis*) y llamas (*Lama glama*). En caprinos se reportó intoxicación experimental únicamente. En este trabajo se describe un caso de intoxicación en caprinos por consumo de heno de alfalfa, contaminados con *Pascalía glauca* en la provincia de Jujuy.

Materiales y métodos. El episodio se presentó en un hato de 47 cabras de un pequeño productor ubicado en la localidad de Bárcena, departamento Tumbaya, a 1790 msnm. Durante agosto de 2010 un organismo gubernamental de ganadería entregó fardos de alfalfa para ayudar a sobrellevar el déficit estacional de forrajes naturales que resulta severa en la zona de prepuna. Los fardos fueron administrados como única dieta a 14 chivitos destetados de entre 4-6 meses de edad, que, según el manejo realizado, eran encerrados diariamente al atardecer en un corral pequeño con agua de bebida suficiente, con alambrado perimetral completo, hasta el otro día. Una vez encerrados se suministró 3 fardos al lote. Entre 10 a 12 horas posteriores al suministro, amanecieron 5 animales muertos y otros 5 se encontraban postrados en decúbito lateral en agonía terminal, con mioclonías y convulsiones, encontrándose los 4 animales restantes con apatía y depresión. Los fardos administrados habían sido ingeridos casi en su totalidad. Se realizó la necropsia completa de 4 animales y la toma de muestras de tejidos conservados en formol al 10 % para estudios histopatológicos, y se inspeccionaron los fardos restantes correspondientes al mismo lote que los suministrados.

Resultados. Los resultados a la necropsia mostraron cambios hepáticos con patrón reticular difuso marcado, siendo marcadamente hemorrágico en algunos casos, mientras que, en otros, el puntillado hemorrágico se alternaba con sectores blanquecinos bien marcados. La vesícula biliar se encontraba plétórica conteniendo bilis espesa y paredes moderadamente edematosas. No se observaron otros cambios significativos. Microscópicamente se observó necrosis aguda, coagulativa centrolobulillar difusa, con sectores de hemorrágica centrolobulillar (Figura 1). La inspección de los fardos de alfalfa almacenados demostró la presencia de plantas secas, algunas en floración, de *P. glauca* en cantidad moderada respecto al total del material del fardo (Figura 2).

Conclusiones. Se realizó el diagnóstico de intoxicación por *Pascalía glauca* en base a los signos clínicos, y los hallazgos macro y microscópicos junto a la presencia de plantas secas en los fardos suministrados. Los fardos problema fueron retirados del consumo al momento de la visita, sin embargo, los restantes 4 animales murieron dentro de las 30 horas del suministro, dejando una morbi-letalidad del 100 %. Posteriormente la entidad gubernamental retiró el lote de fardos problema, y a pesar del diagnóstico establecido, proveyó nuevos fardos de alfalfa a dicho productor, los que fueron suministrados al resto del lote de caprinos adultos en los encierres diarios, produciéndose nuevamente una mortandad de 10 animales en

menos de 24 horas de suministrados, con el hallazgo de idénticas lesiones y contaminación de los nuevos fardos con plantas secas de *Pascalía glauca*.



A pesar de no poder cuantificar el consumo de plantas tóxicas aproximado, resulta notoria la sensibilidad de la especie a la acción tóxica de *P. glauca*, por los resultados observados, similares a otras especies. El sunchillo es una maleza presente en vastas regiones del noroeste argentino, incluyendo regiones del chaco salteño, zona de transición de las yungas, prepuna e inclusive puede hallarse en la puna, todas regiones con alta presencia de productores de caprinos, sin embargo, no existen reportes de intoxicaciones naturales en esta especie, lo que tal vez esté más condicionado por el diferente hábito de consumo de dicha especie, pero también por la dificultad al acceso al diagnóstico por los pequeños productores.

Bibliografía

- Colque Caro, L., Araoz, V., Delgado, F. y Micheloud, J. (2016). Experimental poisoning by *Pascalía glauca* in goats. X Reunión Argentina de Patología Veterinaria. Esperanza, Argentina.
- García, J., Cantón, G., García, B., Micheloud, J., Campero, C., Späth, E. y Odriozola, E. (2017) Retrospective analysis of cattle poisoning in Argentina (2000-2013). *Pesq Vet Bras* 37:210–214.
- Liboreiro *et al.* (2021) Spontaneous outbreak of *Pascalía glauca* poisoning in sheep in Argentina. *Braz J Vet Pathol*, 14(2):99–101.

PT3-PRESUNTO BROTE DE ABORTO BOVINO POR CONSUMO DE *Pinus spp.* EN LA PROVINCIA DE CHUBUT, ARGENTINA

R. Apostolo¹, C. Robles², L. Borrelli³, R. Herrera⁴, F. Díaz⁵, C. Silva², M. Chodilef², A. Martínez²

¹Grupo de Producción Animal, INTA Esquel; ²Grupo Salud Animal, INTA Bariloche; ³Laboratorio de Microhistología, INTA Bariloche; ⁴Residencia Estudiantil, UNCPBA-INTA Bariloche; ⁵Veterinario de actividad privada.
apostolo.romina@inta.gob.ar

Introducción. El carácter etiológico multifactorial de los abortos bovinos influye en la baja eficiencia diagnóstica de los mismos. Los abortos se pueden clasificar en infecciosos (viral, bacteriano, parasitario o fúngico) y no infecciosos (tóxico, metabólico, genético o ambiental). En cuanto a los agentes tóxicos se pueden nombrar a micotoxinas o plantas, siendo que estas últimas están condicionadas a cada región particular donde se crían los bovinos. En la zona cordillerana de la Patagonia, parte de la ganadería bovina se lleva a cabo en bosque natural o con pastoreo en plantaciones de coníferas bajo sistemas silvopastoriles. Recientemente, se han detectado niveles tóxicos de Ácido Isocuprésico (ICA) en diferentes plantaciones de *Pinus ponderosa* de la región cordillerana Patagónica.¹ El ICA, y sus metabolitos derivados, son potentes compuestos abortigénicos que además de abortos, producen nacimientos prematuros y retención de placenta en bovinos. Ante la ocurrencia de un brote de abortos en un establecimiento cercano a la localidad de Trevelin, se llevó a cabo una investigación diagnóstica.

Materiales y métodos. En 2020 se registró un brote de aborto en un rodeo tipo cabaña de raza Aberdeen Angus de un establecimiento cercano a Trevelin, Chubut. El rodeo compuesto por 50 madres, se formó en 2017 con reposición propia de hembras y sin adquirir nuevos toros. El servicio inició el 12-12-19 y finalizó el 29-2-20 (79 días), fue de tipo natural, las vacas ingresaron con baja condición corporal (CC) y con un 14% de toros. El establecimiento consta de un campo de veranada en la cordillera donde se realizó el servicio y un campo de invernada al que llegaron las madres a fines de abril. Allí se realizó el diagnóstico de preñez por palpación transrectal a los 60 días de finalizado el servicio, en el mismo 27/50 (54%) vacas resultaron preñadas. Los animales pastorearon forraje diferido en pie en un bosque de ñire y cipres y cortinas cortaviento de *Pinus ponderosa* delimitando los cuadros. A fines de julio ante la mala CC de las vacas y la poca oferta de forraje en pie, se las suplementó con fardos de avena. Desde el 25-7-20 al 20-8-2020 se presentaron 5 abortos y 2 nacimientos de terneros débiles que murieron al poco tiempo. En septiembre 2020, se produjo otro aborto y el resto de las madres parieron sin problemas llegando al 38% de parición. Para intentar diagnosticar la causa de los abortos, tanto de madres abortadas como de madres no abortadas, se tomaron muestras de suero, para análisis de anticuerpos contra *Brucella abortus* (Ba) por BPA y *Neospora caninum* (Nc) por IFI, y muestras de materia fecal, para determinar la presencia y el porcentaje de *Pinus spp.* en la dieta de las vacas mediante la técnica microhistológica. Los muestreos fueron realizados el día que ocurrió el aborto, excepto la madre ID-1 que se muestreó a los 3 días posteriores. Debido a que el rodeo tenía antecedentes recientes de vacunación contra enfermedades reproductivas, los sueros no se procesaron para la determinación de anticuerpos contra agentes virales. A las madres se registró condición corporal (CC, escala 1 a 5) y temperatura rectal (T°). No se recuperaron placentas de los abortos. A los primeros 5 fetos se les realizó necropsia y toma de muestras de suero para determinación de anticuerpos contra Ba y *Campylobacter fetus* (Cf) por IFI. También se tomaron muestras de líquido torácico, pulmón y contenido abomasal para detección de anticuerpos contra Nc y cultivo bacteriológico. Por último, muestras de hígado, pulmón, riñón, tiroides y encéfalo fetales fueron fijadas en formol y procesadas para análisis histopatológico mediante técnicas histológicas de rutina.

Resultados. En la Tabla 1 y 2 se presentan las observaciones y determinaciones realizadas en las madres y en los fetos respectivamente. Dos de las madres que abortaron presentaron retención de placenta. Los fetos tenían aproximadamente 7 meses y a la necropsia no tenían lesiones macroscópicas.

Tanto en el líquido de abomaso como en el resto de las muestras procesadas, no se aislaron bacterias abortigénicas. En el estudio histológico se encontró un único foco de gliosis cicatricial en tálamo, sin observarse lesiones en las demás estructuras del SNC ni otros órganos evaluados.

Tabla 1. Resultados de los análisis en madres abortadas y no abortadas.

ID	Condición	CC	T°	Ba	Nc	Dieta (% <i>Pinus spp.</i>)
1	Abortada	3	38	Neg	+	0
2	Abortada	2	38,5	Neg	+	31
3	Abortada	3	38,9	Neg	+	18
4	Abortada	2	39,2	Neg	+	10
5	Abortada	3,5	38,8	Neg	+	sd
6	No abortada	sd	sd	Neg	Neg	0
7	No abortada	3	38,2	Neg	+	2
8	No abortada	3	39,2	Neg	+	4
9	No abortada	2,5	39,2	Neg	+	sd
10	No abortada	3	38,5	Neg	+	1
11	No abortada	3,5	39	Neg	Sosp	sd

Ba: *Brucella abortus*; Nc: *Neospora caninum* Neg: Negativo; Sosp: Sospechoso; sd: Sin datos

Tabla 2. Resultados de los análisis en los fetos abortados.

Feto	Ba	Cf	Nc	Histopatología
1	Neg	Neg	+	Sin Lesion
2	Neg	Neg	Neg	Gliosis cicatricial
3	Neg	Neg	sm	Sin Lesión
4	Neg	Neg	Neg	Sin Lesion
5	Neg	Neg	Neg	Sin Lesion

Ba: *Brucella abortus*; Cf: *Campylobacter fetus*; Nc: *Neospora caninum*. Neg: Negativo; sm: Sin muestra

Discusión y conclusiones. El 50% de las pérdidas se detectaron entre el servicio y el tacto. Esto pudo deberse a la baja CC que presentaban las vacas al inicio del servicio o bien, a causas infecciosas de muerte embrionaria. Al momento de ocurrir los abortos, no se observaron diferencias de CC ni T° de las madres. Si bien no se testearon todos los agentes abortigénicos; la información serológica, microbiológica e histopatológica obtenida permitió descartar las principales causas bacterianas que producen fallas reproductivas en bovinos². El hallazgo histopatológico en el encéfalo de uno de los fetos, así como la presencia de anticuerpos contra Nc en el líquido de cuajo de otro, resultaron compatibles a infección por el protozoario, sin embargo, no fueron suficientes para confirmar a este agente como la causa de los abortos sugiriéndose utilizar técnicas inmunohistoquímicas. No se observaron diferencias en la serología contra Nc entre vacas abortadas y no abortadas, de hecho, se encontró un 90% de positividad en los animales, lo cual demuestra la alta difusión del parásito en el establecimiento. El mayor consumo de *Pinus spp.* en las vacas abortadas respecto de las no abortadas, y la ausencia de lesiones macro y microscópicas que orienten a una etiología infecciosa, indicarían que el consumo de coníferas podría estar relacionado con los abortos reportados. Para confirmar el diagnóstico de aborto por consumo de coníferas, se deberían analizar líquidos fetales mediante técnicas de cromatografía (GC-MS) y/o ELISAs para detectar los metabolitos derivados del tóxico ICA;³ sin embargo, estas técnicas aún no se encuentran disponibles en el país.

Referencias

- Martinez *et al* (2018). Aborto en bovino por consumo de acículas de pino: Análisis de Ácido Isocuprésico en coníferas de Patagonia Argentina. *Cong Nac Sist Silvopast*.
- Morrel (2010). Caracterización diagnóstica de las causas infecciosas del aborto bovino. *Tesis doctoral UNLP*.
- Snider *et al* (2015). Pine needle abortion biomarker detected in bovine fetal fluids. *J Vet Diag Inv*. 27:74–79.

PT4-PERFIL TOXICOLÓGICO DE GRAMÍNEAS NATIVAS INVOLUCRADAS EN BROTES DE “MAL DE HUECÚ” EN LA PATAGONIA ARGENTINA

G. Zabaleta¹; D. Cook²; S. Lee²; M. Aguilar³; C. Robles¹; L.J. Iannone⁴; A. Martínez¹

¹Grupo Salud Animal, INTA Bariloche; ²Poisonous Plant Research Laboratory, USDA Logan, Estados Unidos; ³Agencia de Extensión, INTAP¹⁰ San Julián; ⁴Laboratorio de Micología, DBBE, FCEN, UBA e INMIBO-CONICET, Argentina.

Email: zabaleta.gabriela@inta.gob.ar

Introducción. El consumo de las gramíneas nativas *Poa huecu* y *Festuca argentina* produce en ovinos, caprinos, bovinos y equinos la enfermedad conocida como “Mal de Hecú”. Los animales intoxicados presentan signos clínicos nerviosos como temblores musculares, incoordinación motora, convulsiones e incluso muerte¹. Estas plantas se han caracterizado como hospedantes del hongo *Epichloë tembladera*², a quien se ha atribuido la producción de toxinas tremorgénicas. En ambas gramíneas se han realizado estudios químicos para determinar el perfil toxicológico, sin embargo, los resultados obtenidos fueron ambiguos y no se logró justificar la signología presentada por los animales afectados. Con el objetivo de indagar en la toxicidad de *P. huecu* y *F. argentina*, que explique el cuadro tremorgénico que ocasiona su consumo, se analizaron poblaciones de plantas pertenecientes a establecimientos con antecedentes recientes de intoxicación en el ganado.

Materiales y Métodos. Entre los años 2017 y 2019, se reportaron cinco brotes de “Mal del Hecú” en la Patagonia Argentina (Tabla 1). De cada brote se registró la información clínica-epidemiológica, se realizó necropsia a los animales muertos y se tomaron muestras para estudios histopatológicos. Se recorrieron los potreros donde los animales estaban pastando en búsqueda de *P. huecu* o *F. argentina*, y de cada sitio se recolectó un espécimen entero para su identificación botánica. Además, se colectaron macollos de entre 5 a 50 plantas que fueron analizadas bajo microscopio para la identificación de hifas compatibles con *Epichloë spp.* y establecer la tasa de infección, conocida como incidencia endofítica. El perfil toxicológico se determinó mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en las bases de macollos liofilizados según los protocolos descriptos previamente para la detección de indol-diterpenos⁴ (IDTs).

Resultados. Los brotes de “Mal del Hecú” se asociaron con la presencia de *F. argentina* y *P. huecu*. Los brotes de intoxicación ocurrieron estacionalmente en otoño, entre los meses de abril y junio. La clínica observada se caracterizó por signos neurológicos, como temblores musculares, movimiento oscilante de la cabeza, aumento de la base de sustentación, decúbito lateral, y en algunos casos se observaron convulsiones, opistótono y muerte. Sin bien en los animales necropsiados no se encontraron lesiones macroscópicas, bajo estudio histológico se detectó necrosis en las células de Purkinje.

Tabla 1. Características de los brotes de “Mal de Hecú” en la Patagonia Argentina.

Brote	Provincia	Especie	Stoc k	M/M *	Planta °	E+
1	Rio Negro	Caprino	8	75/50	Fa	66
2	Santa Cruz	Bovino	10	90/0	Fa	75
3	Neuquén	Bovino	45	5/0	Ph	100
4	Neuquén	Caprino	68	3/0	Ph	80
5	Neuquén	Caprino	135	8/0	Ph	20

Ref.: °: Fa, *F. argentina*; Ph, *P. huecu*. M / M*: morbilidad / mortalidad.
E+: incidencia endofítica.

En la Tabla 2 se observan los principales indol-diterpenos detectados en las gramíneas involucradas en los brotes.

Tabla 2. Perfil toxicológico de las poblaciones de *Poa huecu* y *Festuca argentina* involucradas en los brotes de “Mal de Hecú”.

IDTs	MH+ (m/z)	RT	Brote				
			1	2	3	4	5
Emindol SB	406,31044	35,1	+	+	+	+	+
Terpendol B	422,26897	26,4	+	+	+	+	-
Paspalina	422,30535	33,7	+	+	+	+	+
Paxilina ☞	436,24823	30,2	+	+	+	+	+
Terpendol E	438,30027	23,5	+	+	+	+	+
Terpendol I	454,25879	18,9	+	+	-	+	+
Terpendol D	506,32648	33,6	+	+	+	+	+
Terpendol C ☞	520,30574	29,7	+	+	+	+	+
Terpendol J	522,32139	30,2	+	+	-	-	+
Lolitre B ☞			-	-	-	-	-

Ref.: MH+, masa de los IDTs; RT, tiempo de retención;
☞, con efecto tremorgénico en animales.

Discusión. Los datos clínicos-epidemiológicos coinciden parcialmente con los brotes de síndrome tremorgénico “ryegrass stagger” por consumo de *Lolium perenne* asociado al endófito *Epichloë festucae* var *loli*³. Según la bibliografía, estos se caracterizan por ser de morbilidad elevada y una mortalidad baja³; sin embargo, en nuestro trabajo en el Brote 1 se registró una mortalidad alta del 50%. La incidencia endofítica fue de 70.5% para *F. argentina* y de 66.6% para *P. huecu*, resultando similares a los encontrados en cultivares de *L. perenne* en Nueva Zelanda y Australia donde son frecuentes los casos de intoxicación, y mayores a cultivares en países donde la intoxicación no es frecuente³. Tanto en *F. argentina* como en *P. huecu* se detectaron diversos IDTs como emindol SB, paspalina, paxilina, y terpendoles, sin embargo, no se detectó lolitre B en ninguna de las plantas. Históricamente, el estudio de intoxicaciones tremorgénicas como el ryegrass stagger se ha centrado en la detección del lolitre B. En los últimos años compuestos como terpendol C, paxilina y terpendol A/M hallados en otras plantas tóxicas fueron confirmados como IDTs tremorgénicos en animales⁴. Para corroborar la toxicidad de cada compuesto, serían necesarios trabajos adicionales en modelos animales, considerando diversas concentraciones y evaluando efectos sinérgicos entre distintos IDTs. Actualmente, nuestro grupo está llevando a cabo estudios para determinar el potencial genético de los hongos endófitos para la síntesis de estos compuestos y de ese modo poder predecir el potencial toxigénico de los pastizales. En conclusión, mediante este estudio se postula a terpendol C y paxilina, como toxinas tremorgénicas responsables de la signología detectada en la intoxicación por el consumo de *F. argentina* y/o *P. huecu* en caprinos y bovinos de la Patagonia Argentina.

Referencias

- Martínez et al 2020. Fatal stagger poisoning by consumption of *Festuca argentina* in goats from Argentine Patagonia. *Toxicon*, 186: 191-197.
- Cabral et al 1999. Evidence supporting the occurrence of a new species of endophyte in some South American grasses. *Mycologia*, 91: 315-325.
- Vikuket al 2020. Infection rates and alkaloid patterns of different grass species with systemic *Epichloë* endophytes. *AEM*. 85: 354-367.
- Lee et al 2017. Identification of indole diterpenes in *Ipomoea asarifolia* and *Ipomoea muelleri*, plants tremorgenic to livestock. *JAFCh*. 65: 5266-5277.

PT5-INTOXICACIÓN POR CARBOXIN EN BOVINOS LECHEROS EN JUJUY, ARGENTINA

Marín RE¹, Heit CI²

¹Facultad Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Jujuy, Argentina. raulemarin@hotmail.com

²Instituto de Investigaciones y Prestación de Servicios LAnaRT, Universidad Nacional de Jujuy, Argentina.

Introducción. Carboxin es un fungicida utilizado como terapéutico de semillas, perteneciente al grupo de las carboximidaz, y clasificado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como plaguicida con ingredientes activos de grado técnico poco peligrosos (clase III), siendo su mecanismo de acción la inhibición de la fosforilación oxidativa a nivel de la succinato-deshidrogenasa. La semilla de algodón entera es un ingrediente ampliamente utilizado en raciones para vacas lecheras debido a su aporte proteico, de fibra y energético, administrándose a no más 15 % diario de la ración total, y aunque puede contener gossypol, una sustancia tóxica, la utilización de este suplemento en la forma sugerida, descarta la posibilidad de toxicidad en bovinos, debido a la capacidad detoxificante de esta especie. El caso aquí descripto ocurrió en 2001, pero debido a la inexistencia de reportes sobre intoxicación con este plaguicida, se considera oportuna su notificación.

Materiales y métodos. El episodio se presentó en un tambo bovino intensivo, de 120 vacas en ordeño raza Holando Argentino, con promedio de 22 litros/vaca/día, ubicado en la provincia de Jujuy, que realizaba alimentación a corral con suministro de alfalfa cortada, silo de maíz, y suplementación con semilla de algodón en vacas en lactancia y en vaquillonas de preñez avanzada. La semilla de algodón para consumo animal se almacenaba embolsada en unidades de 50 kg aproximadamente en un galpón. Dicha suplementación llevaba 20 días de implementación en ambas categorías. El problema se presentó en el lote de 15 vaquillonas preñadas de reposición, de muy buena condición corporal, de unos 500 kgs. de peso promedio, y luego de transcurrida una hora desde la provisión matinal de las semillas de algodón en los comederos. Se realizó la inspección clínica de los animales afectados y la necropsia de 3 animales. El contenido ruminal y abomasal fue procesado en búsqueda de pesticidas, por extracción con metanol y clean up con columna de Florisil y posterior elución con acetona, para eliminar las grasas y productos interferentes. Todos los reactivos y solventes usados fueron de grado residuo de plaguicidas. El análisis se realizó con un cromatógrafo de gases HP 6890 acoplado a un Espectrómetro de Masas HP 5972 A, de Agilent Technologies. El gas carrier fue Helio UAP y la columna capilar fue una DB-5 de 30 m de longitud, 0.25 mm de diámetro interno y 0.25 µm de espesor de film. y también de diferentes órganos para estudios histopatológicos conservados en formol al 10 %. Además, se revisaron los comederos de racionamiento y se inspeccionó el resto de semillas almacenadas.

Resultado. El problema se evidenció una hora después del inicio del consumo, y en forma progresiva, todos los animales presentaron signología severa dentro de las 3 horas posteriores. Se observó abundante ptialismo, diarrea, fasciculación muscular marcada en grandes masas musculares, miosis, incoordinación severa, hipermetría e hiperexcitabilidad, presentándose varios abortos. El curso clínico duró aproximadamente una hora, evolucionando a la postración en estado convulsivo, pedaleo y muerte. Murieron 14/15 animales en forma hiperaguda no pudiendo realizarse tratamiento alguno. El animal restante fue tratado con atropina

y murió en 48 horas. No se observaron cambios macroscópicos significativos a la necropsia. El contenido ruminal y abomasal presentaba abundante cantidad de semillas de algodón, algunas de ellas todavía presentaban el color rosado característico de la semilla curada. Además, se observó restos de semilla de algodón de color rosado en los comederos. En el contenido ruminal y abomasal se encontró Carboxin cuya presencia fue confirmada, además de los ensayos cromatográficos correspondientes, con la librería de Espectros de Masa NIST 75 K. Las muestras de tejido no fueron posteriormente procesadas, debido a los resultados toxicológicos. A la inspección del resto de las bolsas de semillas de algodón almacenadas, se localizaron 3 bolsas de semillas de algodón tratadas con carboxin, de color rosado característico y debidamente rotuladas con las advertencias tóxicas del producto.

Discusión. Las características epidemiológicas, el curso clínico, la presencia de semillas de algodón curadas en el aparato digestivo, y en los comederos recientemente provistos, de apariencia similar a la semilla tratada con carboxin de las bolsas rotuladas halladas en el depósito, y la abundancia de carboxin detectado en el contenido abomasal y ruminal, apoyan el diagnóstico establecido. Las muestras de tejido no fueron procesadas, debido al costo extra que ocasionaría. Las vacas en lactancia, que también eran suplementadas con semillas de algodón se encontraban en ordeño al momento de iniciado el problema en los corrales de suplementación. El inusual hecho de suministrar como alimento, semillas identificadas tanto en el rótulo, como en la característica distintiva de las mismas debido al color rosado intenso, por parte de personal experimentado, introdujo la posibilidad de sabotaje, produciendo un altísimo impacto económico negativo en el sistema, debido al tipo de categoría afectada. Carboxin es considerado como un principio activo poco peligroso, de acuerdo a la clasificación de la OMS, que se basa principalmente en la toxicidad aguda por vía oral y dérmica para la rata, ya que esas determinaciones son de uso corriente en toxicología. Se considera oportuno comunicar esta intoxicación debido a que no se conocen antecedentes sobre la toxicidad por esta sustancia en rumiantes, y aunque en este caso no pudo establecerse la cantidad de semilla administrada, debido a la posible intencionalidad del acto, ni la dosis que ingirieron los animales, es posible considerar que al menos en bovinos puede ser altamente peligrosa.

Bibliografía

- Anónimo (2019). Clasificación recomendada por la OMS de los plaguicidas por el peligro que presentan y directrices para la clasificación. Organización Mundial de la Salud. pp 39.
- Arregui, M.C.; Puricelli, E. (2008). Mecanismo de acción de los plaguicidas. 1ra Edición. Aquatint. Rosario. Argentina. pp 105-106.
- Librería de Espectros de Masa NIST 75K para Agilent Technologies 1997. Practical Organic Chemistry. Vogel 5th Edition. 1989.

PT6-CARACTERIZACIÓN DE ENDÓFITOS *EPICHLÖE* PRESENTES EN *FESTUCA ARGENTINA* DE LA PATAGONIA ARGENTINA

G. Zabaleta¹; L.J. Iannone²; A. Martínez¹

¹ Grupo Salud Animal, INTA Bariloche; ² Laboratorio de Micología, DBBE, FCEN, UBA e INMIBO-CONICET

Email: zabaleta.gabriela@inta.gob.ar

E2	Neuquén	+	95%
E3	NQN	+	100%
E4	RN	-	90%
E5	RN	-	100%

Introducción. Muchas especies de gramíneas de la subfamilia Pooideae establecen asociaciones asintomáticas con hongos del género *Epichloë*. En Argentina, el consumo de las gramíneas nativas *Poa huecu* y *Festuca argentina* en Patagonia como también *Festuca fiebrigii* en el Noroeste, producen las enfermedades tremorgénicas conocidas localmente como “Mal de Huecú” y “Tembladera”, respectivamente^{1,2}. Si bien estas plantas se han caracterizado como hospedantes del hongo *Epichloë tembladerae*³, a quien se ha atribuido como productor de alcaloides tremorgénicos, este endófito también se encuentra asociado a un amplio grupo de gramíneas de diversos géneros no tóxicas para el ganado^{4,5}. El objetivo del trabajo es estudiar y comparar la incidencia y características morfológicas de hongos endófitos del género *Epichloë* en poblaciones de *Festuca argentina* con y sin antecedentes de intoxicaciones.

Materiales y Métodos. A partir de los registros del Sistema Integrado Regional de Sanidad Animal (SIRSA) de INTA Bariloche, se seleccionaron tres establecimientos ganaderos donde han ocurrido casos de intoxicación (E1, E2, E3) y dos sin antecedentes de intoxicación (E4, E5) (Tabla 1). En cada lugar se colectó un total de 20 especímenes de *F. argentina*. La presencia de hifas endofíticas se determinó mediante observación histológica bajo microscopio óptico de parénquima de vaina foliar tratado con tinción de azul de anilina. La tasa de infección (Incidencia endofítica poblacional) fue calculada como el cociente entre especímenes asociados a endófitos (E+) sobre el total de especímenes analizados en cada población. El aislamiento y caracterización morfológica de los endófitos se realizó en E1 y E5. A partir de macollos de planta E+, se cortaron 15 fragmentos de 5mm, los cuales se colocaron en medio agar papa glucosado con cloranfenicol (APGc) previa desinfección superficial mediante lavados sucesivos de: etanol 70% por 1 minuto, hipoclorito de sodio 2,5% por 6 minutos, y etanol 50% por 1 minuto. Se incubaron en oscuridad a 24°C por un período de 45 días. Para la caracterización macroscópica de los aislamientos se colocó un trozo de colonia de aproximadamente 0,25 cm² en placas de Petri con APG comercial Britania, preparado según instrucciones del fabricante. A los 30 días de incubación en oscuridad a 24°C se evaluó el crecimiento y se caracterizó el aspecto como la textura y coloración de la colonia de anverso y reverso. Para la caracterización microscópica se colocaron tres trozos de colonia en placas de Petri con una capa delgada de medio agar agua al 2% y se los incubó por 30 días en oscuridad a 24°C. Luego, se cortaron bloques de agar con micelio de 1 cm² y se observó bajo microscopio óptico. Se tomaron fotografías, y se midió el largo y ancho de veinte conidios y veinte células conidiógenas mediante el software ImageJ.

Resultados. En todos los sitios se observó una alta incidencia endofítica, con más del 90% de las plantas infectadas por *Epichloë* (Tabla 1).

Tabla 1. Características de los establecimientos ganaderos con presencia de *F. argentina*.

Sitio	Provincia	Antecedente de intoxicación	Incidencia endofítica
E1	Rio Negro	+	100%

Los endófitos aislados presentaron colonias de aspecto similar, exhibiendo en anverso micelio aéreo algodonoso, blanco y de densidad compacta y halo castaño. En el reverso presentaron coloración marrón en el centro y más claro en los márgenes. Microscópicamente se caracterizaron conidios hialinos, de formas semilunares, alantoides, a menudo hinchados; y células conidiógenas hialinas no ramificadas y rectas. Tanto la velocidad de crecimiento del endófito como los tamaños de las estructuras microscópicas resultaron similares (Tabla 2).

Tabla 2. Morfología de los endófitos aislados a partir de *F. argentina* de sitios con y sin antecedentes de intoxicación.

Cepa	Crecimiento Media ± E.E. (mm)		Conidio Media ± E.E. (µm)	Célula conidiógena Media ± E.E. (µm)
E1	20,6 ± 0,1	L	8,03 ± 0,55	30,15 ± 1,99
		A	2,27 ± 0,07	1,97 ± 0,04
E5	22,5 ± 0,2	L	7,88 ± 0,43	28,82 ± 1,48
		A	2,55 ± 0,05	2,13 ± 0,05
Et		L	4 - 10	10 -31
Ref ³	21 - 30	A	2 - 4	1,5 – 3,5

Ref: Et Ref, *Epichloë tembladerae* cepa de referencia³. L, largo; A, ancho.

Discusión. A partir de poblaciones de *F. argentina* de potreros en establecimientos con y sin antecedentes de Mal del Huecú, se logró identificar un endófito del género *Epichloë*. Las características macro y micromorfológicas coinciden con la descrita para *Epichloë tembladerae*, endófito previamente asociado a *F. argentina*³. Para cerciorar la identidad del mismo se requieren análisis moleculares⁵. La presencia de este endófito en *F. argentina* provenientes de establecimientos con y sin antecedentes de intoxicación sugiere que su mera detección y/o aislamiento no serían suficientes para relacionarlo con el potencial toxigénico del pastizal. En base a esto se precisarían más estudios para establecer factores asociados al riesgo de toxicidad como abundancia de plantas y presión de herbivoría como también análisis moleculares y toxicológicos que permitan estimar con mayor exactitud el potencial toxigénico del pastizal y así poder diseñar estrategias de prevención de las intoxicaciones.

Referencias

- Martínez et al 2020. Fatal stagger poisoning by consumption of *Festuca argentina* (Speg.) Parodi in goats from Argentine Patagonia. Toxicon, 186, 191-197.
- Rivas et al 1909 La tembladera. Enfermedad propia de los animales herbívoros de las regiones andinas. Rev Fac Agron Vet Plata 5:5–35.
- Cabral, et al 1999. Evidence supporting the occurrence of a new species of endophyte in some South American grasses. Mycologia, 91(2), 315-325.
- Mc Cargo (2015). Evolución y diversidad de endófitos *Epichloë* de la forrajera nativa *Bromus auleticus* (Doctoral dissertation, Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales).
- Iannone et al 2012. Endophytes of native grasses from South America: biodiversity and ecology. Fungal Ecology, 5(3), 357-363.

PT7-MORTANDAD EN VACAS POR *Stenocarpella maydis* EN EL SUR DE LA PROVINCIA DE CÓRDOBA

E. E. Sticotti¹, M.N. Maciá¹, G.G. Magnano¹, J. Poo², C.C. Castellari³, M. Pezzini⁴, J. Fernández⁵, D. Lando⁶, J. A. Giraudo^{1,6}

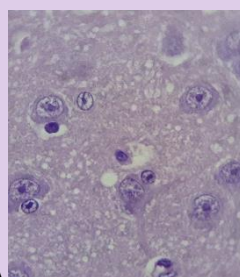
¹Departamento de Patología Animal, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto. ²Laboratorio de Toxicología Veterinaria del INTA EEA Balcarce, ³Laboratorio de Microbiología de Suelos y Alimentos. Facultad de Ciencias Agrarias UNMdP, ⁴Ingeniero Agrónomo, Actividad privada. ⁵Médico veterinario, Actividad privada, ⁶Laboratorio LASA Río Cuarto. esticotti@ayv.unrc.edu.ar

Introducción. *Stenocarpella maydis* (Berk.) B. Sutton es el principal hongo fitopatógeno del maíz y es causante de diplodiosis, una neuromicotoxicosis que afecta al ganado pastoreando en restos o rastrojo de maíz infectado. Este hongo se reportó por primera vez en Argentina en 2003 (Correa Luna y Odriozola 2003) y el primer caso de diplodiosis fue descrita en el país en 2005 (Odriozola *et al.*, 2005). Se aislaron varias micotoxinas de maíces infectados con *S. maydis* (diplodiatoxina, dipmatol, diplonina y chaetoglobosinas), aunque hasta el momento no se pudo determinar cuál es la responsable de la intoxicación en bovinos y ovinos. Entre los signos clínicos que produce al ganado se encuentran paresia, ataxia, parálisis y muerte, así como abortos y mortalidad perinatal. Histopatológicamente genera inflamación y mielopatía espongiforme en la materia blanca del cerebelo, alcanzado también al encéfalo en casos de exposición prolongada. El objetivo de este trabajo es describir un caso de diplodiosis observado en vacas de cría pastoreando un maíz diferido.

Materiales y métodos. Caso clínico: se presentó en un establecimiento de cría bovina en la zona rural de Tosquita, sur de Córdoba, en agosto de 2020, con un rodeo de 400 vacas y vaquillonas, la mayoría paridas. Desde fines de mayo permanecían en un lote de maíz diferido de calidad baja, sembrado con algo de centeno; este lote llevaba 4 años consecutivos de siembra de maíz. Se realizaba un pastoreo sectorizado frontal con boyero eléctrico. Los signos clínicos se iniciaron al séptimo día de ingresar a la última parcela posterior a unos días de llovizna, sin tener registros clínicos similares en años anteriores. Seis vacas comenzaron con signología nerviosa, dificultad para caminar, rigidez moderada en los miembros posteriores y finalmente permanecían postradas. Con un diagnóstico presuntivo de hipomagnesemia, recibieron un tratamiento con Mg endovenoso sin resultados positivos. Se realizó la necropsia de dos animales afectados, recolectando muestras para estudios histopatológicos, virológicos y bacteriológicos. Incluyeron cultivos bacterianos de rutina y serología para enfermedades virales nerviosas. Se recolectaron espigas con presencia visible de hongos y se tomó una muestra de contenido ruminal, ambas para determinar la presencia de *S. maydis*. Con el maíz se realizó un cultivo en Agar Papa Glucosa (2%) + Cloranfenicol. Técnica de siembra: piezas en superficie, incubación 7 días a 28°C. Observaciones: 5 y 7 días. Identificación de géneros/especies por técnicas de microbiología convencional. El contenido ruminal se observó al microscopio por triplicado en cámara de Neubauer.

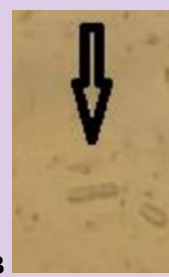
Resultados. Necropsia: las principales lesiones macroscópicas consistieron en deshidratación leve, líquido seroso en cavidad torácica, abundante contenido de granos y chalas de maíz en rumen. El SNC presentaba hiperemia y abundante salida de líquido cefalorraquídeo. En los otros sistemas no se observaron lesiones. Laboratorio: histopatología, los vasos sanguíneos de cerebro presentaban congestión y depósitos de sustancia proteica en el interior de algunos de ellos. En sectores se observaron neuronas con diferentes grados de necrosis e inicio de satelitosis. En otras áreas la sustancia gris exhibía características de espongiosis. En cerebelo, algunas células de Purkinje presentaban citoplasma deshilachado y sin núcleo, con sectores de pérdida de dichas células. En médula espinal se observó hiperemia generalizada y áreas con pequeñas hemorragias. Los cultivos bacterianos en Agar sangre y Mac Conkey de tejidos nerviosos, resultaron negativos. La serología para DVB e IBR también fue negativa. Se detectó *S. maydis* en

las muestras de grano con un porcentaje de infección del 65%. En contenido ruminal, se observó la presencia de picnidiosporas de *S. maydis*, indicando con ello el consumo del maíz contaminado.



A

Figura A: espongiosis en sustancia gris.



B

B: picnidiosporas de *S. maydis* del contenido ruminal.

Discusión y conclusión. De acuerdo a la información epidemiológica, los signos clínicos, los hallazgos patológicos macro y microscópicos y la observación y detección de hongos de la especie *S. maydis*, sumado la ausencia de otros patógenos en las muestras, se concluye que el cuadro fue compatible con Diplodiosis. Algunas lesiones histopatológicas como espongiosis en cerebro y necrosis de células de Purkinje, fueron coincidentes con las observadas con otros autores; no obstante, en cerebelo y en médula espinal no se advirtió espongiosis. Posiblemente, al ser estas lesiones sectorizadas, las zonas de tejido muestreados no se correspondieron con ellas. Inmediatamente se indicó el retiro de los animales del lote problema, no obstante, los casos siguieron apareciendo por 10 días. Finalizado el brote, se registró un total de 12 vacas muertas. Las condiciones agronómicas predisponentes para la proliferación de *S. maydis* es la siembra directa y el monocultivo de maíz (Llada *et al.*, 2017). En este caso la consecutiva siembra del recurso forrajero durante varios años fue la principal causa predisponente de la presentación de la patología. Para evitar contaminación de un año al otro, lo más conveniente es hacer rotación de cultivo. Si esto no es posible se aconseja enterrar los restos mediante roturación de la tierra ya que hay evidencia que la competencia con los microorganismos del suelo disminuye la carga de esporas (Casa *et al.*, 2006). Si bien hay registro de *S. maydis* en estas regiones, este es el primer reporte de diplodiosis en esta zona del país.

Bibliografía

- Correa Luna, M. y Odriozola, E. INTA Informa, N° 234. INTA Venado Tuerto; INTA Balcarce.
- Fernández, J., Fiorani, F., Hara, S., Maggio J., Odriozola E.R., Morrell E., Clemente G. y I.A. Erreguerena (2012) "Reporte de un caso de intoxicación por *Stenocarpella maydis*" en Libro de Resúmenes de la XIX Reunión Científica de la Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico.
- Odriozola, E.; Odeón, A.; Cantón, G.; Clemente, G. y Escande, A. (2005) N Z Vet J. 53:160-161.
- Llada, I.; Cantón, G.; Dalceggio, M.; Sicalo Gianechini, L.; Armendano, J.I.; Erreguerena, I. y Odriozola, E. (2016). RAP, 37, Vol 1.
- Casa, R.T., Reis, E.M. & Zambolim, L. (2006). *Fitopatol. Bras.*, 31:427-439.

RESISTENCIA ANTIMICROBIANA

R1-RESEÑA SOBRE LA CIRCULACION DE *Staphylococcus aureus* RESISTENTES A LA METICILINA MULTIRRESISTENTES EN ESTABLECIMIENTOS PORCINOS DE CRÍA INTENSIVA DE LA REPUBLICA ARGENTINA

GI Giacoboni ¹, H Nieves ¹, VF Nieves ¹, E Pérez ², A Armocida ³, FA Moredo ¹, P Galletti ⁴

¹LaByAn. Facultad de Ciencias Veterinarias, La Plata, Buenos Aires. ²Laboratorio Microvet, General Madariaga, Buenos Aires. ³

Cátedra de Medicina Porcina. Facultad de Ciencias Veterinarias, La Plata, Buenos Aires ⁴Servicio antimicrobianos INEI-ANLIS "Dr Carlos Malbrán" Buenos Aires, Argentina. ggiacoboni@gmail.com

Introducción. *Staphylococcus aureus* con resistencia a la meticilina (SARM) es un patógeno zoonótico emergente y una de las principales causas de infecciones hospitalarias (HA-SARM) y de la comunidad (CA-SARM) en humanos. La OMS los catalogó dentro de las 12 familias bacterianas de patógenos prioritarios resistentes a los antimicrobianos que representan una amenaza para la salud humana. En 2005 se detectó una nueva línea genética de SARM, asociada al ganado, *livestock associated SARM* (LA-SARM). Siendo la porcina, la especie animal de la cual se aíslan con mayor frecuencia. Habitan las fosas nasales de los animales y se disemina a los trabajadores de los establecimientos, quienes a su vez trasladan al resto de la población. El monitoreo de resistencia a los antimicrobianos en animales de producción que en la actualidad se realizan en nuestro país, no incluye a SARM. Dada la importancia que tienen los estafilococos con estas características en la salud pública, se comenzó a tomar muestras para conocer si estaban presentes en los animales de granjas porcinas de cría intensiva, y continuar con estudios previos (2011) en los que solo se registró resistencia a la meticilina en estafilococos coagulasa negativos. El objetivo de este trabajo es realizar una reseña respecto a la circulación de SARM en granjas de producción porcina de la República Argentina

Materiales y método. Las muestras seleccionadas para determinar la presencia de SARM fueron hisopados nasales. En 2019 se recolectaron 42 hisopados de cerdos de 25, 77, 100, 110 y 154 días pertenecientes a 2 granjas de la Pcia de Buenos Aires. En 2021, 8 muestras de animales de 27 días de un establecimiento de la Pcia de Santa Fé, y 8 muestras de animales de 80 días de una granja de la Pcia de Buenos Aires. Los hisopos se colocaron en caldo tripticasa soya adicionado con 6,5 % de CINA y se incubaron 12 horas a 37° C. Posteriormente, se replicaron en CHROMagar™ MRSA y se dejaron en estufa a 37°C por 24 horas. Las colonias sospechosas se confirmaron como *S. aureus* por pruebas bioquímicas convencionales. La sensibilidad antimicrobiana a cefoxitina (FOX) como predictor del gen *mecA*, eritromicina (ERY), clindamicina (CLIN), gentamicina (GEN), ciprofloxacina (CIP), tetraciclina (TET), cloranfenicol (CMP), nitrofurantoína (NIT), rifamicina (RIF) y linezolid (LNZ) por difusión con disco según las normas del CLSI (2019). Para confirmar la resistencia a la meticilina se realizó la detección del gen *mecA*. Hasta el momento, en el Instituto de Enfermedades Infecciosas Anlis Dr C. Malbrán se caracterizaron los SARM obtenidos en 2019, definiendo el complejo clonal. (Multilocus sequence typing MLST).

Resultados. De las 58 muestras procesadas 13 (22,4 %) presentaron resistencia a la meticilina y en todos se confirmó la

presencia del gen *mecA*. Los SARM tuvieron en común 100 % de sensibilidad a RIF, NIT y LNZ y 100 % de resistencia a CLIN, CMP, TET y CIP. Hubo diferencias en el comportamiento frente a ERY y GEN con resistencias de 84,6 % (11/13) y 38,4 % (5/13) respectivamente. Las edades de los animales a partir de los cuales se aislaron SARM fueron 154, 80 y 27 días. Los dos aislamientos del año 2019 se caracterizaron como ST6458 complejo clonal 1 (CC1).

Discusión y conclusiones. La emergencia de SARM en animales de producción para consumo humano alerta sobre su posible diseminación no sólo en la cadena alimentaria sino también entre los trabajadores que se encuentran en contacto estrecho con los animales. En países con grandes poblaciones de cerdos con sistema de producción intensivo, LA-SARM se registran con más frecuencia. En nuestro país, hasta el momento, se ha podido caracterizar el CC1 asociado a infecciones humanas (CA-SARM). Este hallazgo alienta la presunción que la colonización en los cerdos podría haber sido a partir del hombre. Hasta la fecha no se registraron LA-SARM en Argentina. En los SARM aislados se evidenció multiresistencia a diferentes drogas que se utilizan para tratar las infecciones causadas por *S. aureus*, y al perfil de resistencia predominante ERY, CLIN, TET, CMP y CIP se sumaron 5 cepas con resistencia también a GEN. Estos resultados contrastan con lo hallado en 2011 en un estudio longitudinal en cerdos de 21 días de vida de establecimientos de Pcia de Buenos Aires, en el cual no se detectó SARM sino estafilococos coagulasa negativos 29/34 (85,3 %) acompañado con el perfil más frecuente de resistencia, ERY, CLIN, GEN y CIP (38,2 %). Esta reseña sobre la aparición de SARM multiresistentes en cerdos de producción intensiva, alerta sobre la necesidad de su vigilancia en nuestro país, más aún cuando se detectó la circulación de clones de CA-SARM prevalentes en la población humana, para así tomar medidas apropiadas que eviten su diseminación.

Bibliografía

- Armand-Lefevre y col (2005). Clonal comparison of *Staphylococcus aureus* isolates from healthy pig farmers, human controls, and pigs. Emerg Infect Dis, 11:711-714.
- Abreu, R., Rodríguez-Álvarez, C. y col. (2019) Increased Antimicrobial Resistance of MRSA Strains Isolated from Pigs in Spain between 2009 and 2018. Vet. Sci., 6:38.
- Giacoboni y col. (2016) *Staphylococcus* resistentes a meticilina y multiresistentes en cerdos de cría intensiva: estudio longitudinal en un establecimiento de la Provincia de Buenos Aires. MI-0685:304 CALAM, Rosario.
- Giacoboni y col. (2020). Nasal colonization of MRSA in Argentinian fattening pigs. AAVM. Virtual.

R2-*Escherichia coli* RESISTENTES A ANTIMICROBIANOS DE IMPORTANCIA CRÍTICA PARA LA SALUD PÚBLICA, AISLADOS DE CERDOS DE LA REPÚBLICA ARGENTINA

MF Gómez^{1,2}, F Vinocur^{1,2}, S. Rodríguez Ramos^{1,2}, BJ Garassino^{1,2}, H. Nievas¹, V. Nievas¹, L. Alarcón², A. Armocida⁴, E. Pérez⁵, D. Griffo⁶, G. Giacoboni¹, F. Moredo^{1,2}.

1. Laboratorio de Bacteriología y Antimicrobianos, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP. Cátedra de Microbiología, FCV-UNLP. 3. Cátedra de Epidemiología Aplicada FCV-UNLP. 4. Cátedra de Medicina Porcina FCV-UNLP. 5. Laboratorio de Diagnóstico Veterinario-hnievas@fcv.unlp.edu.ar

Introducción. La OMS elaboró el listado de antimicrobianos de importancia crítica (AIC), que incluye la totalidad de los antimicrobianos (ATM) utilizados en salud pública. En función de su importancia, los categorizó en tres grupos, muchos de los cuales, también se utilizan en medicina veterinaria. La finalidad del documento es contribuir a gestionar la resistencia a los antimicrobianos (RAM) y garantizar que todos los ATM, sobre todo los AIC, se utilicen de forma prudente tanto en medicina humana como en veterinaria. El objetivo del presente trabajo es informar resultados preliminares sobre el comportamiento de *E. coli* no enterotoxigénicos, aislados de materia fecal de cerdos de la República Argentina, frente a antimicrobianos clasificados como de importancia crítica para la salud pública.

Materiales y métodos. En el marco de un proyecto de investigación que se está realizando en el Laboratorio de Bacteriología y Antimicrobianos de la FCV-UNLP, en 2018, se procesaron 57 muestras provenientes de 11 granjas ubicadas en la principal región productiva de la República Argentina (Buenos Aires, Santa Fé, Entre Ríos, San Luis). El 63,1% correspondió a materia fecal de animales con diarrea (C/D), principalmente lechones de 2-5 días de vida y el 36,8% restante, materia fecal de cerdos de 45-70 días sin diarrea (S/D). Como estrategia de tamizaje para la recuperación de *E. coli* resistentes, 1 gramo de materia fecal se sembró en 9 ml de agua peptonada tamponada e incubada durante 18 horas a 37°C. Posteriormente, se repicaron 30 µl en agar Mac Conkey adicionado con 4 µg/ml de cefotaxima (MC-CTX) y agar Mac Conkey adicionado con 2 µg/ml de colistina (MC-COL). Luego de 24 horas de incubación, se seleccionó una colonia sospechosa de ser *E. coli* por muestra, dos en caso de ser morfológicamente diferentes. La tipificación fenotípica se realizó con pruebas bioquímicas y fisiológicas tradicionales. Para determinar el comportamiento frente a los AIC, cefotaxima (CTX), ceftazidima (CAZ), amoxicilina/ác. clavulánico (AMC), imipenem (IMI), ertapenem (ERT), ác. nalidíxico (NAL), ciprofloxacina (CIP), gentamicina (GEN), amikacina (AKN), fosfomicina (FOS), se utilizó el método de difusión en agar y los puntos de corte del CLSI M100-Ed31; y para colistina, el crecimiento en Müller-Hinton adicionado con 3 µg/ml de la sulfato de colistina. Mediante PCR previamente publicadas, se determinó la presencia de los genes que codifican resistencia a colistina, *mcr-1*, a cefotaxima mediada por la β-lactamasa CTX-M, *bla*_{CTX-M} y factores de virulencia que caracterizan ETEC (*estI*, *eltA*, *eastA*).

Resultados. En las muestras provenientes de las 11 granjas porcinas se aislaron *E. coli* resistentes a cefotaxima, colistina o a ambos. Ninguno fue caracterizado como toxigénico. De las 36 muestras de animales C/D, se observó desarrollo compatible con *E. coli* en 24 MC-CTX, 4 MC-COL y 8 en ambos medios. A partir de las 21 muestras provenientes de cerdos S/D, se observó desarrollo compatible con *E. coli* en 7 MC-CTX, 5 MC-COL y 9 en ambos. Se corroboró la identificación de los aislamientos como *E. coli* y se detectaron los genes *bla*_{CTX-M}, *mcr-1* o ambos en 17, 10 y 4 provenientes de animales C/D y 2, 17 y 14 de cerdos S/D respectivamente. El total de *E. coli* aislados fue 76; 41 a partir de animales C/D y 35 S/D. Aún falta determinar el tipo de BLEE presente en 12 *E. coli* resistentes a CTX y negativos a *bla*_{CTX-M}.

En la tabla se describe el comportamiento de estos aislamientos frente a otros AIC para la salud pública:

Comportamiento de *E. coli* de origen porcino frente a antimicrobianos de importancia crítica para la salud pública

	Cerdos con diarrea (n 41)			Cerdos sin diarrea (n 35)		
	S	I	R	S	I	R
Antimicrobianos de Máxima Prioridad						
Cefalosporinas de 3ª generación						
Cefotaxima	12,2	2,4	85,4	45,7	2,8	51,4
Ceftazidima	48,8	9,7	41,5	60	8,6	31,4
Polimixinas						
Colistina	68,3	-	31,7	8,5	-	91,4
Quinolonas						
Ác. Nalidíxico	-	11,1	88,9	12,5	4,2	83,3
Ciprofloxacina	34,1	26,8	39	28,6	37,1	34,3
Antimicrobiano de Gran Prioridad						
Aminoglucósidos						
Gentamicina	70,7	9,7	19,5	88,5	2,8	8,6
Amikacina	87,8	9,7	2,4	100	-	-
Carbapenemes						
Imipenem	100	-	-	100	-	-
Ertapenem	100	-	-	100	-	-
Aminopenicilinas con inhibidores						
Amoxicilina/ác. clavulánico	56,1	17	26,8	82,8	-	17,1
Derivados del Ác. fosfónico						
Fosfomicina	95,1	-	4,9	68,6	14,3	17,1

Valores expresados en porcentaje

Dentro del grupo de *E. coli* resistentes a CTX, 16 también lo fueron a cefotaxima FOX, sugiriendo en estos casos no sólo la presencia de BLEE sino también de AmpC como mecanismos de resistencia.

La totalidad de los *E. coli* recuperados, 76, fueron multiresistentes (se comportaron como resistentes frente a 3 o más grupos de antimicrobianos).

Perfiles de resistencia frecuentemente observados dentro de los *E. coli* de origen porcino

AMC, CTX, CAZ, FOX, COL, GEN, CIP, FOS, CLO, TET
AMC, CTX, GEN, TMS, CLO, TET
CTX, COL, CIP, TMS, NIT, CLO, TET
CTX, CAZ, FOX, COL, NAL, CLO, TET
CTX, CAZ, COL, CIP, TMS, TET
CTX, CAZ, COL, CIP, TMS, CLO, TET
AMC, CTX, CAZ, CIP, TMS, CLO, TET

CLO: cloranfenicol; TET: tetraciclina; TMS: trimetoprima/sulfametoxazol; NIT: nitrofurantoina

Discusión y conclusiones. En coincidencia con lo publicado con Faccone y col., los resultados obtenidos indican que, dentro de las granjas de producción porcina, circulan *E. coli* portadores de elementos móviles con genes que confieren resistencia especialmente AIC. Esto podría deberse a la presión de selección ejercida por el uso de ATM como amoxicilina, ceftiofur, enrofloxacin, florfenicol, oxitetraciclina, fosfomicina y lo fue colistina. Cuando el trabajo finalice, se conocerán los clones bacterianos que están circulando dentro de los establecimientos y su posible implicancia sobre la salud pública.

Bibliografía

- OMS (2019). Lista OMS de antimicrobianos de importancia crítica para la medicina humana.
- Faccone, D. y col. J Glob Antimicrob Resist 2019, 18:160-162.

R3-EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DEL TRICLABENDAZOL COMO FASCIOLICIDA EN CAPRINOS EN LA PROVINCIA DE NEUQUÉN ARGENTINA

I. Centelles ¹, A. Martínez ², R. Cabrera ², B. Castillo ³, M. Larroza ²

¹Agencia de Extensión Rural, INTA Chos Malal, Neuquén, ²Grupo de Salud Animal-INTA Bariloche, Río Negro, ³Agencia de Producción y Sanidad, Secretaría de Desarrollo territorial y ambiente, Colipilli, Neuquén.

Email: centelles.ivan@inta.gob.ar

Introducción. La fasciolosis, producida por el parásito trematodo *Fasciola hepatica* (Fh), es una de las enfermedades parasitarias más importantes de los rumiantes domésticos.¹ En la Patagonia Argentina, la enfermedad es endémica en establecimientos ganaderos en las zonas de cordillera y pre cordillera. En estos establecimientos, es frecuente el uso de triclabendazol (TCBZ) como fasciolicida, realizando sistemáticamente una o dos desparasitaciones anuales sin diagnóstico coproparasitológico previo ni rotación de principios activos.^{2,3} Como consecuencia de su uso indiscriminado, se ha reportado resistencia antiparasitaria de Fh al TCBZ en establecimientos ganaderos bovinos y ovinos de la provincia de Neuquén,⁴ sin embargo, hasta la fecha no se han realizado estudios de eficacia del TCBZ contra Fh en caprinos. Considerando estos antecedentes, se realizó el presente estudio con el objetivo de evaluar la eficacia del TCBZ como fasciolicida en caprinos bajo un sistema de producción trashumante del norte de la provincia de Neuquén.

Materiales y métodos. El estudio se realizó en los meses de junio y julio de 2019, en un hato caprino de raza Criollo Neuquino con antecedentes de fasciolosis crónica. Según datos obtenidos en un estudio de conocimientos actitudes y prácticas CAP previo, a pesar de los tratamientos con TCBZ realizados en el año, se observaba presencia de parásitos adultos en el hígado de los caprinos faenados. El establecimiento, perteneciente a la comunidad mapuche Huayquillán, se ubica en el paraje Colipilli (latitud 37.7, longitud -70.4), provincia de Neuquén. Los caprinos se manejaban bajo un sistema de producción tradicional extensivo con trashumancia, lo cual implica el movimiento de los animales desde los campos bajos de invernada a los valles cordilleranos de veranada en busca de mejores pasturas. Para realizar el estudio de eficacia, se utilizaron caprinos de 2 a 6 dientes, identificados con caravanas, que no hubiesen sido desparasitados al menos durante los tres meses previos al ensayo. Se conformaron dos grupos experimentales correspondientes a un grupo control (GC) compuesto por 10 animales a los cuales no se le realizó ningún tratamiento, y un grupo tratado (GT) de 10 animales a los que se les administró TCBZ al 10% por vía oral en dosis de 10 mg/kg peso vivo. Al inicio del estudio (Día 0), todos los animales fueron pesados mediante una balanza electrónica y se administró TCBZ al GT de acuerdo a su peso corporal. Las muestras de materia fecal se tomaron de manera individual directamente del recto los días 0 y 21 post tratamiento. Para la identificación y conteo de huevos de Fh por gramo de materia fecal (HpgFh), se utilizó la técnica de Sedimentación – Filtración. La eficacia antiparasitaria se calculó mediante la comparación de los conteos de Hpg Fh en los caprinos antes y después del tratamiento, según el test de reducción del conteo de huevos (TRCH), de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$R. C. H. (\%) = \frac{C - T}{C} \times 100$$

Donde C es la media aritmética del grupo control y T es la media aritmética del grupo tratado 21 días post-tratamiento⁵.

Resultados. En el día 0, el promedio HpgFh del GC fue de 28,9 (rango: 11-60), y en el GT de 30,7 (rango: 14-67). En el día 21

post-tratamiento, el promedio del GC fue de 16,3 (rango: 5-59, mientras que no se observaron huevos de Fh en las muestras del GT para esta fecha (Tabla 1). De acuerdo a estos resultados, el porcentaje de reducción del conteo de HpgFh en los caprinos evaluados luego del tratamiento con TCBZ fue del 100%.

Grupo control										
Animales	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Día 0	11	12	14	16	21	32	33	38	52	60
Día 21	5	59	15	18	12	4	25	6	5	14

Grupo tratado										
Animales	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Día 0	19	58	28	67	20	14	14	35	21	31
Día 21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabla 1: Cantidad de huevos de *Fh* por gramo de materia fecal (HpgFh) evaluado en cada animal, al inicio y final de la prueba de eficacia de TCBZ en caprinos del Norte de Neuquén.

Discusión. Se confirmó que el TCBZ a dosis de 10 mg/kg PV tuvo una eficacia fasciolicida de los caprinos tratados del Norte de la Provincia de Neuquén. Con estos resultados inferimos que las fallas en los tratamientos mencionados por los productores de la zona podrían deberse a errores de manejo, como dosificación según estimación visual del peso, instrumental descalibrado o en malas condiciones, uso de productos no adecuados, entre otros y no a una reducción *per se* en la efectividad antiparasitaria del TCBZ. Considerando la frecuencia de uso del TCBZ en la región, es recomendable realizar pruebas de eficacia periódicamente, con el fin de detectar tempranamente las posibles fallas de eficacia, en los tratamientos realizados.

Bibliografía

- Olaechea, F.V. (2007). *Fasciola hepatica*. En: Suárez, V.; Olaechea, F.; Romero, J.; Rossanigo, C. (eds.). Enfermedades parasitarias de los ovinos y otros rumiantes menores en el cono sur de América. INTA EEA Anguil:159– 168.
- Aguilar, M., Alvarez, R. (2017). Efectividad del Triclabendazole en ovinos en la Meseta Central Santacruceña. CT INTA AER San Julián:5.
- Alberghini, J.P. (2019). Caracterización de enfermedades del ganado para su control y prevención, en productores trashumantes de la provincia de Neuquén. Tesis de Maestría. UNCo-INTA-UNR.
- Olaechea, F.V. *et al.* (2011). Revisión de hallazgos parasitológicos en bovinos en Patagonia realizados en el Laboratorio de Parasitología de la EEA-INTA Bariloche 2005-2010. En AAPA libro de resúmenes. Asoc. Arg. Prod. Animal.
- Coles, G. *et al.* (1992). World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. Vet. Parasite. 44:35-44.

R4-CEPA DE *MYCOBACTERIUM AVIUM* RESISTENTE A ANTIBIÓTICOS AISLADA DE UN FELINO DOMÉSTICO CON MICOBACTERIOSIS DISEMINADA

MJ Traversa¹, C Nieves², MB Mancino², D Sappia³, L Denzoin³, JP García⁴, MB Riccio⁴, N Morcillo²

¹Laboratorio de Micobacterias. Dto SAMP. CIC. CIVETAN. CONICET. Facultad de Cs. Veterinarias. UNCPBA. Pinto 399. (7000) Tandil. Pcia. de Buenos Aires. mjt@vet.unicen.edu.ar

²Laboratorio de Tuberculosis y Micobacterias. Hospital del Tórax Dr. Antonio A. Cetrángolo. Ministerio de Salud Pcia Bs As. Italia 1750. (B1602) Vicente López. Pcia. de Buenos Aires.

³Actividad privada y Facultad de Cs. Veterinarias. UNCPBA. Pinto 399. (7000) Tandil. Pcia. de Buenos Aires.

⁴Servicio de Diagnóstico Veterinario FCV Tandil. Facultad de Cs. Veterinarias. UNCPBA. Pinto 399. (7000) Tandil. Buenos Aires.

Introducción. Las micobacterias son bacilos ácido alcohol resistentes (BAAR) que causan tuberculosis, lepra y micobacteriosis en seres humanos y animales. En función de su implicancia clínica pueden actuar como patógenos estrictos, patógenos potenciales o patógenos excepcionales. Los patógenos estrictos causan tuberculosis y lepra y los patógenos potenciales y excepcionales causan micobacteriosis. En seres humanos las micobacteriosis son ocasionadas principalmente por miembros del complejo *M. avium* (MAC). Existen estudios epidemiológicos que muestran que *M. avium* es la micobacteria no tuberculosa (MNT) más detectada en los casos de micobacteriosis pulmonar y que su frecuencia está aumentando. En los felinos domésticos las enfermedades micobacterianas son causadas principalmente por *M. microti*, *M. bovis* y *M. avium*, siendo ésta la más aislada dentro de las MNT. Además en los felinos domésticos *M. avium* es la MNT más prevalente en la enfermedad sistémica generalizada con afectación de los ganglios linfáticos. El diagnóstico confirmatorio de las micobacteriosis en los gatos es complejo y desafiante dado que en el mismo la histopatología suele ser el paso inicial y en esta etapa se registran casos que presentan cambios anatomopatológicos con presencia de BAAR pero sin desarrollo micobacteriano durante el cultivo y otros casos en los que se aíslan micobacterias de tejidos que no presentan BAAR en la evaluación anatomopatológica. Otro punto contencioso es el tratamiento de las micobacteriosis felinas dado que las MNT poseen potencial zoonótico para las personas inmunocomprometidas y no hay aprobado un régimen de antibióticos para utilizar en estos casos. De hecho cuando hay evidencia de diseminación severa del agente causal y presencia de malestar sistémico la eutanasia es la opción recomendada para esos pacientes. En aquellos casos en los cuales no se recomienda la eutanasia el tratamiento se intenta pero es muy largo, difícil de implementar y con resultados inciertos; siendo necesaria en ocasiones la hospitalización durante el mismo. Si el veterinario actuante recomienda realizar el tratamiento el propietario del paciente debe acordar realizar periódicamente: el monitoreo de parámetros hematológicos y enzimas hepáticas, diagnóstico por imágenes, la cirugía de ablación en caso de ser necesaria y la implantación y mantenimiento de las vías esofagostómicas para administrar la medicación. Otro punto que debe acordarse con el propietario es que en caso que exista remisión el paciente deberá presentarse a controles durante dos meses post remisión. El propietario también debe conocer que: el tratamiento consta de un *cocktail* de por lo menos tres antimicrobianos diferentes, éstos poseen efectos colaterales y existe la posibilidad de remisiones y de resistencia. Es importante destacar que las micobacteriosis pulmonares causadas por MAC en seres humanos son extremadamente difíciles de tratar debido a la resistencia a antimicrobianos. La misma es el resultado de dos mecanismos, uno se denomina resistencia innata o natural ocasionada por mutaciones en los genes constitutivos 23SrRNA y 16SrRNA y el otro es la resistencia mutacional adquirida. Las mutaciones en los genes 23SrRNA y 16SrRNA confieren resistencia a macrólidos y amicacina, respectivamente. Es por esto que el objetivo del presente trabajo es presentar el aislamiento de una cepa autóctona de *M. avium* fenotípicamente resistente a antibióticos a partir de un

gato doméstico con infección gastrointestinal y linfadenopatía generalizada.

Materiales y métodos. Durante la necropsia de un felino macho cachorro adoptado del hábitat rural se extirparon ganglios mesentéricos con el fin de realizar la confirmación bacteriológica de micobacterias. El paciente recibió la eutanasia mediante métodos aprobados por presentar enfermedad digestiva de curso crónico con linfadenomegalia submandibular e imposibilidad para ingerir alimentos. Se sospechaba la presencia de micobacterias dada la detección de fantasmas intramacrofágicos en un extendido coloreado con la tinción de Giemsa a partir de una biopsia mediante punción con aguja fina (PAF) del ganglio submandibular. A la inspección macroscópica los ganglios mesentéricos extirpados presentaban lesiones granulomatosas a partir de las que se realizó biopsia por PAF, el extendido fue coloreado con la técnica de Ziehl-Neelsen y examinado microscópicamente siguiendo los procedimientos de interpretación de la baciloscopía mediante escala semicuantitativa estandarizada. Para realizar el aislamiento por cultivo las muestras fueron decontaminadas con NaOH 4% y con la solución hipertonica de CINA. El cultivo se realizó en medios sólidos de Lowenstein-Jensen y Stonebrink incubados a 37°C durante 8 semanas y líquido utilizando el sistema automatizado BACTEC™ MGIT™ 960. El aislamiento fue identificado mediante el sistema comercial molecular Geno Type CM™ basado en la reacción en cadena de polimerasa. A partir del aislamiento se realizaron las pruebas fenotípicas de sensibilidad a antibióticos aplicando el método de dilución en caldo con determinación de la concentración inhibitoria mínima validado y estandarizado por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Durante la tórpida evolución de la enfermedad a este paciente se le realizaron las pruebas serológicas para detectar enfermedades virales inmunosupresoras con resultado negativo.

Resultados. La baciloscopía fue positiva (++++) contabilizándose más de diez BAAR (agrupados en empalizada) por campo en 20 campos observados. El aislamiento con el sistema automatizado BACTEC™ MGIT™ 960 fue obtenido a los 8 días de incubación y la cepa fue genotipificada como *M. avium*. Esta cepa salvaje evidenció resistencia fenotípica al aminoglucósido amicacina, al macrólido claritromicina y a la quinolona levofloxacina y sensibilidad fenotípica a cicloserina, etambutol, linezolid, rifampicina y rifabutina.

Conclusión. El reporte de esta cepa de *M. avium* resistente a tres antibióticos pretende desalentar la instauración de antibioticoterapia empírica en los casos de micobacteriosis diseminada felina.

Bibliografía

- Haworth CS, Banks J, Capstick T et al. (2017). British Thoracic Society Guideline for the management of nontuberculous mycobacterial pulmonary disease (NTMPD). *BMJ Open Resp Res.* 4:e000242. doi:10.1136/bmjresp-2017-000242.
- Griffith DE (2018). Treatment of *Mycobacterium avium* Complex (MAC). *Semin Respir Crit Care Med.* 39:351–361.
- Pekkarinen H, Airas N, Savolainen LE, Rantala M, Kilpinen S, Miuku O, Speeti M, Karkamo V, Malkamäki S, Vaara M, Sukura A, Syrjä (2018). Non-tuberculous mycobacteria can cause disseminated mycobacteriosis in cats. *J Comp Path.* 160:1-9
- Gunn-Moore DA, McFarland SE, Brewer JI, Crawshaw TR, Clifton-Hadley RS, Kovalik M, Shaw DJ. 2011a. Mycobacterial disease in cats in Great Britain: I. Culture results, geographical distribution and clinical presentation of 339 cases. *J Feline Med Surg.* 13:934–944.
- Gunn-Moore DA (2014). Feline mycobacterial infections. *Vet J.* 201:230-38.
- Mitchell JL and Gunn-Moore DA (2019). Mycobacterial infections in cats and dogs. *Veterinary Nursing Journal.* 34:4, 102-107,

R5-RESISTENCIA IN VITRO DE *PSOROPTES OVIS* A IVERMECTINA EN ARGENTINA

P. Soler¹; M. Germano²; R. Cabrera¹; M. Larroza¹

¹Grupo de Salud Animal - INTA Bariloche; ²Instituto de Investigaciones Forestales y Agropecuarias Bariloche (IFAB), INTA - CONICET. larroza.marcela@inta.gob.ar

Introducción. La sarna psoróptica ovina, producida por el ácaro *Psoroptes var ovis* es una de las enfermedades parasitarias que mayores daños y pérdidas económicas causa en la producción ovina.¹ Los productos inyectables disponibles actualmente para su tratamiento son drogas del grupo de las lactonas macrocíclicas: ivermectina (IVM) y doramectina (DRM). En los últimos años, se ha reportado una disminución de la efectividad de los tratamientos controlados con IVM tanto en ovinos como en bovinos.^{2,3} Esto evidencia la necesidad de realizar pruebas de eficacia de antisépticos que permitan detectar fallas de manera temprana. En este contexto, el objetivo de este trabajo fue evaluar la eficacia de la IVM contra *P. ovis* en cepas de Patagonia, mediante una técnica in vitro.

Materiales y métodos. Se colectaron ácaros mediante raspajes superficiales de piel en ovinos parasitados experimentalmente, con cepas provenientes de tres establecimientos ganaderos de la provincia de Río Negro: 2 localizados en la localidad El Cuy (L1 y L2), y 1 en Carmen de Patagones (L3). No se registraban reportes de fallas de control con IVM en L1 y L2, sin embargo, habíamos detectado recientemente fallas de control con IVM en L3³. Los ácaros se incubaron en placas de Petri con 20 ml de solución de agar (0,8 g de Agar Columbia / 19 ml de agua destilada), una tinción de 10 µl de solución rojo neutro (solución 12 mg/ml), 1 ml de suero ovino y 1 ml de IVM. Para las placas de control, se reemplazó la IVM por 1 ml de etanol. Se utilizó una concentración diagnóstica de 2000 ng/ml para la comparación de la efectividad de la IVM entre cepas.^{4,5} Se calculó la LC50 de IVM en la cepa L1, como referencia del grado de susceptibilidad en la zona. Las soluciones madre fueron preparadas a partir de una formulación comercial de IVM (Ivomec 1%, Merial). Se realizaron 3 réplicas con 10 ácaros (adultos, protoninfas y tritoinfas), y se mantuvieron a 15 °C y 80% HR. Luego de 72 hs se midió la mortalidad en cada placa.

Resultados. La LC50 de IVM en la cepa L1 fue 1496.10 (898.13 – 2430.50) ng/ml (n = 139). Se observó que las cepas L1 y L2 mostraron similar respuesta a la IVM con una mortalidad en el rango de 50-60 % para la concentración de 2000 ng/ml. Para la cepa L3 ningún ácaro murió durante el tratamiento, evidenciando la falta de respuesta a la IVM (Figura 1).

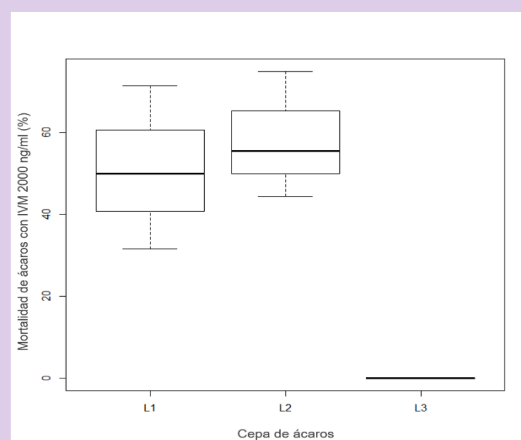


Figura1: Mortalidad de ácaros de las cepas L1, L2 y L3, expuestos a IVM (2000 ng/ml) luego de 72 hs. de incubación.

Discusión y conclusiones. Estos resultados evidencian una falta de respuesta de la cepa L3 a IVM, tanto en comparación con las cepas L1 y L2 como en comparación con los resultados de otros autores,⁵ lo que demuestra la presencia de resistencia adquirida a IVM en esta cepa. Esta resistencia ha sido la causa más probable de las fallas de eficacia de IVM registradas previamente en la cepa L3 en los ensayos in vivo.² Aunque se requieren más estudios para establecer la línea base de susceptibilidad en nuestro país, las pruebas in vitro permitirían discriminar rápidamente entre aislamientos susceptibles y resistentes de *P. ovis* a IVM ante las primeras sospechas de falla en los tratamientos a campo, lo cual significará una menor exposición de los animales y una mayor celeridad en la toma de decisiones sobre los tratamientos a implementar.

Bibliografía

- 1 Food and Agriculture Organization of the United Nations (2004). Guidelines, resistance management and 378 integrated parasite control in ruminants. Rome: Animal Production and Health Division, Agriculture Dept., 379 FAO.
- 2 Larroza, M. *et al.* (2020a). Falla en la eficacia de dos formulaciones de ivermectina contra *Psoroptes ovis* (Hering, 2 1838) en ovinos. FAVE 9:23–29.
- 3 Lifschitz, A. *et al.* (2018). Failure of ivermectin efficacy against *Psoroptes ovis* infestation in cattle: integrated pharmacokinetic-pharmacodynamic evaluation of two commercial formulations. Vet. Parasitol. 263:18–22.
- 4 Doherty, E. *et al.* (2018). First evidence of resistance to macrocyclic lactones in *Psoroptes ovis* sheep scab mites in the UK. Vet. Rec. 182:106.
- 5 Sturgess-Osborne, C. *et al.* (2019). Multiple resistance to macrocyclic lactones in the sheep scab mite *Psoroptes ovis*. Vet Parasitol. 272:79–82.

VIROLOGÍA

V1-ANÁLISIS PRELIMINAR DE LA APOPTOSIS INDUCIDA POR BoHV-4 EN CÉLULAS ENDOMETRIALES BOVINAS EN PRESENCIA DE INFECCIÓN NATURAL CON VDVb

F. Romeo^{1,3}; S.G. Delgado³; E. González-Altamiranda^{1,2}; E. Louge Uriarte²; S. Pérez^{1,4}; A. Verna^{1,2,*}

1. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Rivadavia 1917, C1033AAJ, Buenos Aires, Argentina. 2. Grupo de Sanidad Animal, IPADS Balcarce Instituto de innovación para la Producción Agropecuaria y el Desarrollo Sostenible, 7620 Balcarce, Argentina. 3. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata, Argentina. 4. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNCPBA)/CIVETAN, Sede Tandil, Buenos Aires, Argentina. *Autor responsable: verna.andrea@inta.gob.ar

Introducción. Los virus han evolucionado y la clave de su éxito ha sido la capacidad de evadir los sistemas de defensa de la célula huésped para garantizar replicación y proliferación. El virus de la diarrea viral bovina (VDVB) y el *gammaherpesvirus bovino tipo 4* (BoHV-4) forman parte de los principales patógenos virales que infectan el útero del bovino siendo responsables de enormes pérdidas económicas. Las infecciones por BoHV-4 en el endometrio bovino generalmente se presentan en concomitancia con bacterias Gram negativas. No obstante, las coinfecciones con otros agentes virales, como el VDVb, también son comunes. El BoHV-4 posee dos genes antiapoptóticos (v-Flip y v-Bcl2) e induce la apoptosis de las células infectadas como finalización del ciclo de replicación viral. Resultados previos demostraron que la expresión génica y la replicación de BoHV-4 en células endometriales bovinas (CEB) se ve afectada por la infección natural con una cepa no citopática (NCP) del VDVb. El objetivo del presente trabajo fue evaluar cómo la infección natural en CEB con una cepa NCP de VDVb afecta la apoptosis inducida por BoHV-4 y lipopolisacárido bacteriano (LPS).

Materiales y métodos. Virus: Cepa 07/435 de BoHV-4. Células: Cultivos primarios de CEB, según método propuesto por Tebaldi *et al.* (2016). Los cultivos se analizaron para distintos patógenos de la reproducción, siendo un cultivo positivo para el genotipo 1 del VDVb-1 (CEB+VDVB). Se evaluó apoptosis inducida por los tratamientos BoHV-4 y/o LPS en las CEB y CEB+VDVB a diferentes tiempos post infección (p.i.) (12, 24, 48 hs), mediante la expresión de los transcritos antiapoptóticos (v-flip y v-Bcl2) por RT-PCR, y las alteraciones morfológicas nucleares con la tinción de DAPI, expresando los resultados como Índice Relativo de Apoptosis (IRA). Se realizó un análisis de varianza y comparaciones de medias, según la prueba de diferencia mínima significativa, en aquellos factores de estudio en donde los efectos fueron significativos ($\alpha:0,05$).

Resultados. Los ensayos de apoptosis en CEB infectadas con BoHV4 (+/- LPS) en presencia o ausencia del VDVb mostraron ausencia de la expresión del gen para v-Bcl2, mientras que los transcritos para el gen v-Flip se expresaron en todos los tratamientos. Cuando se estudió la muerte celular con DAPI, no se detectó interacción entre los tratamientos y los tiempos de lectura sobre el IRA para las CEB+VDVB expuestas al BoHV4, a LPS y a BoHV-4+LPS; sin embargo, se observó interacción

entre los niveles de tratamientos y los tiempos de medición sobre el IRA cuando las CEB fueron expuestas a BoHV4 y BoHV-4+LPS. Asimismo, se observó una diferencia significativa en los valores del IRA obtenidos solo a las 48hs en CEB expuestas a BoHV-4 y BoHV-4+LPS.

Discusión y conclusión. Las células que expresan proteínas tipo v-Flip están protegidas de la apoptosis inducida por la activación de Fas y/o de otros receptores relacionados. Por otra parte, la expresión del gen antiapoptótico v-Bcl2 puede establecer infecciones persistentes evitando la muerte celular (apoptosis). La expresión del gen v-Flip y la ausencia de expresión del v-Bcl2, podrían sugerir que la infección por BoHV-4 induciría la apoptosis en células endometriales mediante la vía de señalización mitocondrial. Sin embargo, serán necesarios posteriores estudios para comprender mejor la vía apoptótica involucrada en los cultivos primarios de CEB en presencia de una coinfección viral. A su vez, los valores obtenidos y la independencia del tiempo de infección sobre el IRA en presencia del VDVb podría estar relacionado con la estrategia de las cepas NCP-VDVB de evitar la inducción de la muerte celular. Por lo tanto, la apoptosis inducida por BoHV-4 en células permisivas puede verse alterada en células primariamente infectadas con VDVb. Este hallazgo podría estar indicando cambios en las vías de señalización y consecuencias significativas en los procesos de muerte celular *in vivo*, como las coinfecciones y persistencia del virus en sus hospedadores naturales.

Bibliografía

- Moran, P. *et al.* (2020). Analysis of the anti-apoptotic v-Bcl2 and v-Flip genes and effect on in vitro programmed cell death of Argentinean isolates of bovine gammaherpesvirus 4 (BoHV-4). *Microbial Pathogenesis*, doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104170.
- Tebaldi *et al.* (2016). Virus-Mediated Metalloproteinase 1 Induction Revealed by Transcriptome Profiling of Bovine Herpesvirus 4-Infected Bovine Endometrial Stromal Cells. *Biol Reprod*, doi: 10.1095/biolreprod.116.139097
- Romeo *et al.* (2021). Effect of bovine viral diarrhoea virus on subsequent infectivity of bovine gammaherpesvirus 4 in endometrial cells in primary culture: An in vitro model of viral co-infection. *J Virol Methods*, doi: 10.1016/j.jviromet.2021.114097.

V2-ZOONOSIS POR PARAPOXVIRUS: DIAGNÓSTICO E IDENTIFICACIÓN DE PSEUDOCOWPOX (PCPV)

A Peralta¹, M. Buffarini², A. Trojaola³, M. Formica⁴

1: Instituto de Biotecnología IABIMO (INTA-CONICET); 2: INTA Gral. Villegas; 3: Médico generalista 4: Médico veterinario.
peralta.andrea@inta.gob.ar

Introducción. Los virus Orf (ORFV) Pseudocowpox (PCPV) y Estomatitis Papular Bovina (BPSV) integran el género Parapoxvirus, familia *Poxviridae*, son virus epiteliotrópicos que infectan rumiantes domésticos y silvestres; aunque ocasionalmente pueden afectar al hombre [1]. En el humano, el diagnóstico está subestimado y muchas veces es confundido con otras dermatitis, llevando a procedimientos médicos innecesarios [2]. En el mes de junio de 2021, un productor ganadero realizó una consulta médica por una serie de lesiones que aparecieron en una de sus manos. El paciente relata que diez días atrás realizó un tratamiento de rehidratación con sonda gástrica a dos terneros en mal estado que ingresaron a su establecimiento por compra y que en el proceso se lastimó la mano. Considerando este historial y por el aspecto clínico de las lesiones, el médico sospechó de una infección por Parapoxvirus. Se envió una muestra de biopsia a análisis patológico, pero el resultado no fue concluyente, por lo que se remitió una segunda biopsia al laboratorio de Epidemiología Molecular de Virus (IABIMO-INTA) para el diagnóstico molecular. El objetivo de este trabajo consistió en analizar la muestra biológica mediante PCR específicas que permiten determinar la presencia de genoma de poxvirus causantes de zoonosis.

Materiales y métodos. Muestra: La biopsia de tejido epitelial, de 0.6 x 0.3 cm, fue congelada y enviada refrigerada desde Gral. Villegas hasta el laboratorio de Epidemiología Molecular de Virus del Instituto de Biotecnología (IABIMO) INTA-Castelar. La extracción del ADN se realizó mediante el kit comercial "QIAamp DNA mini kit" de QIAGEN. El ADN extraído se cuantificó en un espectrofotómetro Nanodrop 1000, obteniéndose un rendimiento de 23ng/ul. La muestra recibe el nombre interno: "G.V.21". Análisis por PCR: En primer lugar, se descartó la presencia de inhibidores de la reacción de PCR en el ADN obtenido, mediante una PCR control que amplifica un gen endógeno de mamífero. A continuación, se realizaron dos PCR diagnósticas: una detecta genoma de virus pertenecientes al género Orthopoxvirus y la otra detecta genoma de virus pertenecientes al género Parapoxvirus [3]. Secuenciación: El producto amplificado en la PCR diagnóstica fue purificado y enviado al servicio de secuenciación del IABIMO. La secuencia obtenida fue analizada mediante el programa BioEdit. Se realizó un alineamiento múltiple con secuencias de Parapoxvirus disponibles y mediante el software Mega X, empleando el algoritmo de Neighbor-Joining y el método evolutivo de Kimura 2P se obtuvo un árbol filogenético que permitió la identificación de la muestra.

Resultados. El ADN obtenido de la muestra fue analizado por dos PCR diagnósticas que permiten detectar diferentes tipos de poxvirus. Sólo se obtuvo amplificación específica en la PCR diagnóstica de Parapoxvirus confirmando el diagnóstico clínico. El producto de amplificación de 590pb fue purificado y enviado a secuenciación para la identificación del agente causal. Con la secuencia obtenida se realizó un alineamiento múltiple con secuencias disponibles de distintos Parapoxvirus. Se realizó una matriz de distancia para determinar el grado de identidad nucleotídica. Para la muestra GV21 se obtuvo una identidad entre 84-85% con secuencias de BPSV, entre 93-94% con secuencias de ORFV mientras que la identidad entre GV21 y secuencias de PCPV fue 98,5-99%. En el árbol filogenético se puede observar que la muestra GV21 agrupa con las demás secuencias de PCPV.

De esta manera, se confirmó que el agente causal de la lesión epitelial observada en el paciente, es el virus PCPV.

Discusión. Las lesiones producidas por Parapoxvirus en humanos suelen ser benignas aunque dolorosas, autolimitantes y remitir en 4-8 semanas [1,2]. Esta zoonosis ocupacional muy pocas veces es diagnosticada de forma correcta. Esto puede deberse a diversos factores. Por ejemplo, las infecciones por Parapoxvirus en el ganado no son de declaración obligatoria, por lo tanto, no quedan registros de estos eventos. Otro factor importante es que el personal médico (especialmente de grandes centros urbanos) no está preparado para su reconocimiento. En Argentina, al igual que en el resto del mundo, esta zoonosis está subdiagnosticada. Existe un reporte en la revista de Dermatología Argentina de 2018 [4] donde se presentan tres casos en humanos. En ese reporte se llega al diagnóstico de infección por Parapoxvirus por el diagnóstico clínico y la anamnesis. Pero no se realiza una microscopía electrónica para visualizar la estructura viral tan característica de estos virus, así como tampoco se realiza un análisis molecular para identificar la especie viral responsable de la infección. En nuestro trabajo, la sospecha del médico clínico fue apoyada por el análisis molecular, que no sólo descartó la posibilidad de otros poxvirus, sino que logró además la identificación de la especie de Parapoxvirus que causó la infección. Hasta donde sabemos, se trata del primer registro e identificación molecular de PCPV en nuestro país.

Conclusión. En este trabajo, se muestra cómo el trabajo interdisciplinario, entre el médico clínico, médicos veterinarios que asesoraron y coordinaron y personal de laboratorio de diagnóstico molecular, condujo al diagnóstico correcto de una infección por Parapoxvirus, identificando al agente causal como PCPV.

Bibliografía

- 1- Fleming, F.B., Mercer, A.A. (2007). Genus Parapoxvirus. En *Poxviruses*, ed. Mercer AA, Schmidt A, Weber O, 1st ed.:127–165. Birkhauser Verlag, Berlin, Germany.
- 2- Steinhart, B. (2005). Orf in humans: dramatic but benign. *CJEM*. 7:417-419.
- 3- Inoshima, Y., Morooka, A., Sentsui, H. (2000). Detection and diagnostic of parapoxvirus by the polymerase chain reaction. *J. Virol. Methods* 84:201-208.
- 4- Panizzardi, A., Luna, P., Abad, M.E., Vargas, A., Plumet, J., Casas, J., Larralde, M. (2018). Poxvirus infection: orf and milker's nodule. *Dermatología Argentina*, 24:141-144.

V3-DESARROLLO DE UNA TÉCNICA DE RT-qPCR PARA LA DETECCIÓN DE PESTIVIRUS BOVINOS

P. Favaro¹, L. Calvino^{1,3}, H. Occhi¹, M.J. Dus Santos², A. Pecora².

1. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral, Esperanza, Santa Fe, Argentina

2. Instituto de Virología e Innovaciones Tecnológicas (IVIT), CICVyA INTA Castelar, Buenos Aires, Argentina

3. Instituto de Investigación de la Cadena Láctea (INTA-CONICET), Estación Experimental Agropecuaria Rafaela, Rafaela, Santa Fe, Argentina paulafavaro@gmail.com

Introducción. Los pestivirus bovinos, también conocidos como Virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB) 1 y 2 y virus HoBi-like son responsables de severas pérdidas económicas a nivel mundial. La identificación y eliminación de animales persistentemente infectados es esencial para llevar a cabo programas de control (Moennig and Becher, 2018). Para ello, se utilizan técnicas de diagnóstico directo, como la RT-qPCR (o RT-PCR en tiempo real). La región 5' no codificante (5'UTR) del genoma del VDVB es muy conservada entre los pestivirus, por lo cual es utilizada frecuentemente para la detección molecular de estos agentes (Sandvik, 1999). El objetivo del presente trabajo fue desarrollar una técnica de RT-qPCR que permita detectar ARN del sector 5'UTR de todos los pestivirus bovinos presentes en Argentina.

Materiales y métodos. Para la puesta a punto de la técnica se utilizaron muestras de semen y suero contaminadas con distintas concentraciones de VDVB, además de un plásmido sintetizado para tal fin. Por otro lado, para asegurar la detección de todas las variantes del VDVB, se utilizaron cepas de los genotipos 1a, 1b, 2 y HoBi-Like disponibles en el Instituto de Virología del CICVyA de INTA Castelar. La extracción de ARN fue realizada con el kit comercial High Pure Viral RNA (Roche, Cat. 1185882001) siguiendo las instrucciones del fabricante. El par de *primers* seleccionados para desarrollar la técnica fueron "189" y "389" descriptos previamente (Monteiro et al., 2019). Para la reacción de retro-transcripción, se utilizaron: 0,25 µL de enzima M-MLV transcriptasa reversa (PBL, Cat. EA1303), 2,5 µL de buffer de la enzima, 0,5 µL de mezcla de dNTPs (PBL, Cat. IK0103), 0,5 µL de DTT 0.1M (Sigma-Aldrich, Cat. D0632), 0,25 µL del primer reverse "389", 6 µL de agua libre de nucleasas y 2,5 µL de ARN resultante de la extracción, en un programa de ciclado de 30 minutos a 42°C y 7 minutos a 95°C en el equipo Simplicamp (Applied Biosystems). Para la reacción de qPCR, se utilizaron 1,12 µL de agua libre de nucleasas, 6 µL de Fast Start Essential Sybr Green Master Mix 2X (Roche, Cat. 640271001), 0,2 µL de ROX reference dye (Life Technologies, Cat. 12223012), 1,34 µL de cada primer (Genbiotech) y 2 µL de cDNA obtenido en la reacción de retro-transcripción. El programa de ciclado consistió en: un ciclo a 95°C de 10 minutos seguido de 45 ciclos a 95°C por 20 segundos, 60°C por 20 segundos y 70°C por 20 segundos, con una fase de melting de 95°C por 10 segundos, 65°C por 60 segundos y 95°C por 15 segundos en el equipo Stepone (Applied Biosystems). Para la validación de la técnica se evaluaron: 1. Distintas concentraciones de primers (390 nM, 420 nM, 450 nM, 470 nM, 525 nM, 535 nM and 540 nM); 2. Diluciones seriadas del plásmido, producciones virales, suero y semen contaminado para los rangos lineales de detección; 3. Para estudiar la capacidad de la prueba de detectar un animal positivo dentro de un pool de muestras, se constituyeron pools con 10, 20, 30, 40 y 50 sueros individuales; 4. 12 cepas de genotipos 1a, 1b, 2 y HoBi-like; 5. Con el fin de estudiar la especificidad de la qPCR, se testearon cepas de microorganismos no relacionados al VDVB que afectan a la salud bovina; 6. Ensayos inter-laboratorio; 7. Ensayos de precisión.

Resultados. La mejor concentración de primers fue de 470 nM, con una eficiencia de reacción del 101,86% (Figura 1). Para las diluciones seriadas del plásmido y de producciones virales, la técnica fue capaz de detectar 10¹ copias, mientras que, para muestras de suero y semen contaminado, el límite de detección

se observó en 10². Por otro lado, para pools de suero, la qPCR desarrollada fue capaz de detectar un positivo dentro de un *pool* formado por 30 muestras. Las cepas Singer (VDVB 1a), 63588, 90611, 83532 y 59473 (VDVB1b), vs253, 76/08 y 98/124 (VDVB 2), 83/10 cp, 210185K/13, #48 y #51 (virus HoBi-like) resultaron positivas para la técnica con un TM (melting temperature) que varió entre 84,69 y 85,62. Las cepas de *Virus respiratorio sincicial bovino*, *Parainfluenza-3*, *Herpesvirus bovino-5*, *Herpesvirus bovino-1*, *Virus de la lengua azul*, *Rotavirus bovino* tipo A y *Mycoplasma spp.*, utilizadas para evaluar la especificidad de la técnica resultaron negativas. Finalmente, en todos los ensayos inter-laboratorio se detectó el ARN viral y el plásmido 5'UTR dentro de los rangos esperados. Para los ensayos de precisión, sobre 25 repeticiones realizadas de producciones virales y 10 repeticiones del plásmido, la media de CT observada fue de 14,69 y de 19,32 con desvíos estándar de 3,07 y 3,55, respectivamente.

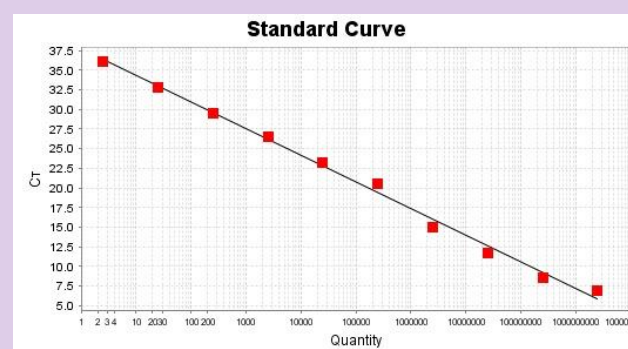


Figura 1. Curva estándar de detección del plásmido para las distintas concentraciones.

Discusión y conclusiones. La RT-qPCR desarrollada demostró ser una técnica de alta sensibilidad, rapidez y especificidad respecto a otras técnicas diagnósticas. La posibilidad de testear sueros en pools representa como ventaja la disminución de costos de diagnóstico cuando se pretende llevar a cabo una estrategia de saneamiento del VDVB. Por su parte, la RT-qPCR permitió detectar el ARN de todos pestivirus bovinos analizados, con la ventaja de detectar el virus HoBi-Like emergente, que no suele ser detectado mediante varias técnicas diagnósticas utilizadas en la actualidad.

Bibliografía

- Moennig, V., Becher, P. (2018). Control of Bovine Viral Diarrhea. *Pathogens* 7. <https://doi.org/10.3390/pathogens7010029>
- Monteiro, F.L., Cargnelutti, J.F., Martins, B., Noll, J.G., Weiblen, R., Flores, E.F. (2019). Detection of bovine pestiviruses in sera of beef calves by a RT-PCR based on a newly designed set of pan – bovine pestivirus primers. *J. Vet. Diagnostic Invest.* 31, 255–258. <https://doi.org/10.1177/1040638719826299>
- Sandvik, T. (1999). Laboratory diagnostic investigations for bovine viral diarrhoea virus infections in cattle. *Veterinary Microbiol.* 64, 123–134. [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(98\)00264-8](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(98)00264-8)

V4-PROCESAMIENTO DE MUESTRAS DE SANGRE SEMBRADAS EN PAPELES DE FILTRO PARA LA DETECCIÓN Y CONSERVACIÓN DEL VIRUS DE LA DIARREA VIRAL BOVINA

P. Favaro¹; L. Calvino^{1,3}, M.J. Dus Santos², A. Pecora².

1. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral, Esperanza, Santa Fe, Argentina

2. Instituto de Virología e Innovaciones Tecnológicas (IVIT), CICVyA INTA Castelar, Buenos Aires, Argentina

3. Instituto de Investigación de la Cadena Láctea (INTA-CONICET), Estación Experimental Agropecuaria Rafaela, Rafaela, Santa Fe, Argentina paulafavaro@gmail.com

Introducción. En los últimos años, se han desarrollado métodos de recolección, conservación y procesamiento de muestras sembradas en papeles de filtro para el diagnóstico de distintas enfermedades infecciosas animales, como la rabia, enfermedad de Newcastle o complejo respiratorio bovino, entre otras (Liang *et al.*, 2014; Perozo *et al.*, 2006; Picard-Meyer *et al.*, 2007). Los papeles llamados FTA Cards® (Flinders Technology Associates) permiten conservar el material genético de los agentes patógenos presentes en una muestra a temperatura ambiente por largos periodos de tiempo. Al mismo tiempo, lo inactivan, por lo que su manipulación durante el transporte no representa un riesgo (Cardona-ospina *et al.*, 2019). El objetivo del presente trabajo fue desarrollar un método para el procesamiento y conservación de muestras de sangre sembradas en dos tipos de papeles para la detección del ARN del Virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB), así como indagar en su potencial para objetivos de *biobanking*.

Materiales y métodos. Se evaluaron dos tipos de papeles: las FTA Cards®, especialmente diseñadas para preservar ácidos nucleicos; y hojas de papel cromatográfico (papeles de celulosa de 3 mm). Se contaminaron muestras de sangre con VDVB de manera que el título viral de la muestra fuera similar al de un animal persistentemente infectado (PI). Se sembraron gotas de 40 µL de sangre contaminada en papel cromatográfico y se dejaron secar a temperatura ambiente por 4 hs. Posteriormente, las gotas secas se almacenaron a temperatura ambiente (TA), 4°C, -20°C y -70°C por 1 y 7 días y 6, 12 y 18 meses. Para cada una de las condiciones de conservación, se realizaron 5 repeticiones. Para las FTA Cards®, se procedió de la misma forma que en el caso anterior, con la diferencia de que se almacenaron por periodos de tiempo más largos (12 y 18 meses). Una vez concluido el período de almacenamiento, se evaluaron distintos protocolos de elución. Para ello, se cortaron 4 discos de 6 mm de diámetro de cada gota seca con un sacabocados, que fueron colocados en tubos de 1,5 mL que contenían 220 µL de MEM (Minimum essential medium). Los tubos se llevaron a agitación durante media hora y luego se realizó la extracción de ARN con un kit comercial (Roche, Cat. 1185882001). La RT-qPCR utilizada para procesar las muestras fue adaptada a partir de una RT-PCR de punto final descrita por Monteiro *et al.* (Monteiro *et al.*, 2019) utilizando los *primers* 189 y 389. El mismo procedimiento se llevó a cabo con muestras de sangre proveniente de dos animales PI sobre el papel cromatográfico, con tiempos de almacenamiento de 6, 12 y 18 meses a 4°C.

Resultados. Los resultados de ambos tipos de papeles en las distintas condiciones evaluadas de tiempo y temperatura de almacenamiento se observan en la tabla 1. En las gotas de sangre de animales PI sembradas en papel cromatográfico y almacenadas a 4°C fue posible detectar ARN del VDVB hasta por periodos de 6 y 12 meses. Todas las muestras evaluadas (gotas de sangre sembradas en papeles provenientes de animales PI y sangre contaminada artificialmente para simular sangre de animales PI) almacenadas por 18 meses en ambos tipos de papeles resultaron negativas. Tabla 1. Promedio de CT para las 5 repeticiones en papel cromatográfico (a) y FTA

Cards® (b) en los tiempos y temperaturas de almacenamiento evaluadas. ND: no detectado. NP: no procesado.

a. Cromatográfico	TA	4°C	-20°C	-70°C
1 día	27,14	25,58	25,64	27,23
7 días	28,77	28,67	28,47	26,26
6 meses	32,1	25,12	24,83	22,02
12 meses	ND	27	26,87	NP

b.FTA	TA	4°C	-20°C	-70°C
12 meses	ND	27,11	28,52	NP

Discusión y conclusiones. La metodología del muestreo en papeles cobra importancia debido a las facilidades que conlleva en el muestreo a campo: por su seguridad, pueden enviarse por correo postal; no requieren refrigeración ni transporte inmediato, por lo que pueden enviarse a laboratorios distantes al sitio de toma de la muestra y agiliza el muestreo, ya que solo se necesita una gota de sangre. Además, el papel cromatográfico constituye una buena alternativa ya que su costo es muy inferior al de las FTA Cards®. Tanto el papel cromatográfico, como las FTA Cards® permitieron almacenar ARN del VDVB por hasta un año a temperaturas de 4°C o menores. Asimismo, el papel cromatográfico conservó su ARN por 6 meses a TA. De esta manera, ambos tipos de papeles demostraron capacidad de conservar ARN del VDVB.

Bibliografía

- Cardona-Ospina, J.A., Villalba-Miranda, M.F., Palechor-Ocampo, L.A., Mancilla, L.I., Sepúlveda-Arias, J.C. (2019). A systematic review of FTA cards® as a tool for viral RNA preservation in fieldwork: Are they safe and effective? *Prev. Vet. Med.* 172. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2019.104772>
- Liang, X., Chigerwe, M., Hietala, S.K., Crossley, B.M. (2014). Evaluation of Fast Technology Analysis (FTA) Cards as an improved method for specimen collection and shipment targeting viruses associated with Bovine Respiratory Disease Complex. *J. Virol. Methods* 202, 69–72. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2014.02.022>
- Monteiro, F.L., Cargnelutti, J.F., Martins, B., Noll, J.G., Weiblen, R., Flores, E.F. (2019). Detection of bovine pestiviruses in sera of beef calves by a RT-PCR based on a newly designed set of pan – bovine pestivirus primers. *J. Vet. Diagnostic Investig.* 31, 255–258. <https://doi.org/10.1177/1040638719826299>
- Perozo, F., Villegas, P., Estevez, C., Alvarado, I., Purvis, L.B. (2006). Use of FTA® filter paper for the molecular detection of Newcastle disease virus. *Avian Pathol.* 35:2, 93–98. <https://doi.org/10.1080/03079450600597410>
- Picard-Meyer, E., Barrat, J., Cliquet, F. (2007). Use of filter paper (FTA®) technology for sampling, recovery and molecular characterisation of rabies viruses. *J. Virol. Methods* 140, 174–182. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2006.11.011>

V5-DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE BRONQUITIS INFECCIOSA AVIAR EN GRANJAS DE GALLINAS PONEDORAS DE HUEVOS COMERCIALES DE LA PROVINCIA DE TUNGURAHUA, ECUADOR

M. Revelo¹, C. Vinuesa¹, M.G. Echeverría²

¹Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Central del Ecuador.

²Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata (mariagabrielaecheverria@yahoo.com.ar).

Introducción. La industria avícola es el sector productivo de mayor crecimiento a nivel mundial. Las actividades productivas que estructuran el sector avícola ecuatoriano incluyen, la crianza de aves reproductoras más pesadas, la incubación de huevos fértiles y la producción de pollos de engorde y huevos (1). La producción de huevos comerciales en el Ecuador tiene la mayor proyección económica, debido a que los huevos de gallinas son fuentes de nutrientes con precios accesibles en el mercado (1). El crecimiento de este sector podría verse afectado por enfermedades que alteran el desempeño productivo de las aves (2). La bronquitis infecciosa aviar (BIA) es una de las enfermedades más problemáticas y comunes dentro de las granjas de aves ponedoras comerciales (2). Sin embargo, en Ecuador no existen publicaciones científicas o investigaciones relacionadas con la presencia de cepas variantes del virus de BIA (IBV, por sus siglas en inglés, Infectious Bronchitis Virus) en las granjas avícolas del país. Conocer las cepas variantes del IBV resulta crucial para el control de la enfermedad. Por lo tanto, el objetivo de la investigación fue establecer un protocolo base para el diagnóstico y posterior caracterización molecular del IBV.

Materiales y métodos. Para alcanzar el propósito mencionado, en primer lugar, desde noviembre 2020 a marzo de 2021 se muestrearon 25 granjas de gallinas ponedoras ubicadas en la provincia de Tungurahua, provincia que contribuye a cubrir el 50% de la demanda de huevos de mesa en Ecuador (1). Las aves tenían entre las 15 a 100 semanas de edad, no presentaban signología compatible con IBV y habían sido vacunadas contra IBV. Se tomaron hisopados laringotraqueales y cloacales, así como muestras de órganos (tráquea, pulmón, oviducto y tonsilas cecales). Las muestras de órganos se cortaron en pedazos muy pequeños, se molieron y homogenizaron con medio MEM estéril (MP Biomedicals) para conseguir suspensiones de 20% (p/v). Las suspensiones de cada uno de los órganos y las muestras de hisopados se centrifugaron a 4500 rpm por 30 min a 4°C. El ARN de las muestras fue extraído con el uso del kit comercial QIAmp® Viral RNA Mini Kit (QIAGEN). A partir del ARN obtenido se procedió con la transcripción reversa (RT) a cDNA (ADN complementario, por sus siglas en inglés). Se empleó para la RT el kit comercial One Script® Plus Reverse Transcriptase – OneScriptPlus cDNA Synthesis Kit (abm). El cDNA resultante se almacenó a -20°C hasta su utilización en la técnica de PCR. En segundo lugar, se realizó la detección del IBV empleando una PCR convencional de punto final, en la que se utilizó como control positivo una vacuna viva contra BIA y cDNA de IBV facilitado por la Agencia de Regulación y Control Fito y Zoonosanitario del Ecuador (AGROCALIDAD). Los cebadores usados para amplificar un segmento de 143pb de la región 5'UTR del IBV fueron diseñados previamente (3). Además, se amplificó una región de 152pb del exón 3 del gen que codifica para β -actina aviar como control interno (4). Como tercera parte, las muestras que resultaron positivas a las PCR de β -actina aviar y 5'UTR fueron sometidas a una prueba de PCR que amplificó un fragmento de 783pb de la proteína S1 (4). Se optimizaron las condiciones de la reacción de PCR para S1 en un volumen final de 45 μ L, empleando GoTaq® Flexi DNA Polymerase (Promega), dNTP Mix (Promega) y agua libre de nucleasas (Genelink). Se realizó una desnaturalización inicial a 94°C por 5 min, seguido de 40 ciclos de desnaturalización a 94°C 1 min, hibridación a 53°C 1 min, extensión del cebador a 72°C durante 1min, y una extensión final a 72°C por 10 min. La electroforesis de los amplicones se realizó en cuba horizontal Enduro GelXL (Labnet), utilizando TAE (40mM, EDTA 0,5M pH 8,0, Promega) a 120V y 400mA por 60 min. El resultado de la migración electroforética en geles de agarosa (Promega) al 2% se observó en un transiluminador UV (Labnet) y se registró con el uso de una cámara fotográfica.

digital (Sony, Cyber-shot DSC-W800). El tamaño de las bandas de ADN se estimó comparándolas con el marcador de tamaño molecular 100bp Plus DNA (Bioneer). Finalmente, los amplicones obtenidos con la PCR convencional para el segmento de la proteína S1 fueron enviados para su secuenciación a Macrogen–Korea. Las secuencias de nucleótidos fueron editadas y alineadas en el programa libre MEGA X. Cada secuencia se colocó en el programa informático Nucleotide BLAST para realizar un alineamiento de tipo local.

Resultados. Como resultados todas las muestras obtenidas a partir de hisopados y órganos fueron positivas para la amplificación de β -actina aviar. Además, a partir de las muestras de oviducto y tonsilas cecales fue posible determinar que 6 granjas eran positivas a BIA; amplificándose los segmentos de la región 5' UTR y de la proteína S1 del IBV. Las secuencias de las 6 granjas que amplificaron el segmento de la proteína S1 tuvieron un porcentaje de identidad superior al 90% con diferentes cepas del IBV.

Discusión y conclusiones. Los resultados conseguidos revelan que es factible el diagnóstico efectivo de BIA empleando una prueba molecular de PCR punto final que amplifique parte de la región 5' UTR del IBV, siempre que en aves sin signología se realice a partir de muestras de oviducto y tonsilas cecales. Aunque se usaron los cebadores diseñados por Callison y col. (2006) y estos autores destacaron que la técnica de PCR a tiempo real permitía distinguir rápidamente el IBV de otros patógenos respiratorios; al usarse en la investigación realizada una PCR de punto final debía ratificarse su sensibilidad y especificidad con las muestras factibles de conseguir en el medio. Por otro lado, Rimondi y col. (2009) indican que un estudio filogenético adecuado del IBV se puede hacer con secuencias que incluyan las regiones hipervariables (HVR, por sus siglas en inglés) 1 y 2 de la proteína S1; dado que el fragmento amplificado en la investigación incluye estas regiones es factible la creación de árboles filogenéticos robustos (5). Además, la amplificación de la parte de la proteína S1, permitirá realizar una caracterización molecular del virus, se podría requerir una amplificación de toda la proteína S a fin de lograr una caracterización más eficiente. Además, durante el período de muestreo no se tuvieron reportes de brotes de BIA; muestras con las cuales sería fundamental probar la metodología.

Bibliografía

- 1- Corporación Nacional de Avicultores del Ecuador (CONAVE). (2020). Importancia de la producción avícola en el contexto nacional. <http://www.maizysoya.com/lector.php?id=20200585>
- 2- Cavanagh, D. & Gelb, J. (2008). Infectious Bronchitis. In G. J. Cavanagh D (Ed.), Diseases of poultry. 12th ed.:117–135. Iowa State University Press.
- 3- Callison, S., Hilt, D., Boynton, T., Sample, B., Robison, R., Swayne, D. & Jackwood, M. (2006). Development and evaluation of a real-time Taqman RT-PCR assay for detection of infectious bronchitis virus from infected chickens. J Virol. Meth, 138:60–65.
- 4- Marandino, A. (2013). Diagnóstico y caracterización genética del virus de la Bronquitis Infecciosa Aviar en la industria avícola regional. Universidad de La República del Uruguay.
- 5- Rimondi, A., Craig, M., Vagnozzi, A., König, G., Delamer, M. y Pereda, A. (2009). Molecular characterization of avian infectious bronchitis virus strains from outbreaks in Argentina (2001–2008). Avian Pathology. 38(2):149-153.

V6-ENFERMEDAD DE AUJESZKY: PERFIL SEROLÓGICO EN UNA GRANJA EN SANEAMIENTO CON VACUNACIÓN

V.I. Cane^{1,2*}, N.B. Pereyra^{1,2}, M.G. Echeverría³⁻⁴, J.E. Sarradell⁵, M.S. Serena³⁻⁴

¹ Cátedra de Microbiología, Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad Nacional de Rosario (UNR); ² Medax, Laboratorio de Red del SENASA, Chañar Ladeado, Sta Fe; ³ Laboratorio de Virología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata; ⁴ CONICET, ⁵ Servicio de Monitoreo y Asesoramiento Sanitario en Porcinos, FCV, UNR.

* valentinacane@fcv.unr.edu.ar

Introducción. La Enfermedad de Aujeszky (EA), causada por el Herpesvirus suino tipo I, del género *Varicellovirus*, subfamilia *Alphaherpesvirinae* y familia *Herpesviridae* (o Virus de la EA, VEA), genera un gran impacto económico en sistemas de producción porcina¹. Puede manifestarse con problemas reproductivos, respiratorios o nerviosos, pero también la infección puede ser inaparente, ya que el VEA establece latencia, y ante situaciones estresantes puede volver a replicar y excretarse al medio. Pueden infectarse otros animales domésticos y salvajes, pero en éstos el desenlace es fatal. La EA se encuentra en Argentina, distribuida por todo el país y bajo el Plan Nacional de Control y Erradicación del SENASA (Res. 474/2009); dicho plan define diferentes estrategias para combatir la EA, en base a la prevalencia (entre otros), como la eliminación inmediata o programada de los animales serológicamente positivos con o sin vacunación, la vacunación sistemática o el despoblamiento-repoblamiento. La única vacuna aprobada (AUSKIPRA-BK) es a virus inactivado con una delección del gen que codifica para la glicoproteína E (gE), importante para la neurovirulencia². El uso de este tipo de vacunas junto a un kit serológico que detecte anticuerpos (Ac) contra gE permite distinguir los cerdos infectados con virus de campo². La seroneutralización (SN), prueba de oro para el diagnóstico, permite identificar los Ac contra el VEA y además conocer el título generado⁴. En el marco de la Res. 474/2009 se utiliza el ensayo inmunoensayo (ELISA), técnica menos laboriosa que la SN, que a través de la detección de Ac anti-gE permite distinguir los animales infectados de los vacunados. El objetivo de este trabajo fue clasificar a los cerdos en infectados y no-infectados mediante ELISA para luego medir el título de anticuerpos por SN, en animales provenientes de una granja en saneamiento que utiliza la vacuna contra el VEA.

Materiales y métodos. Se analizaron sueros provenientes de una granja comercial de la Provincia de Buenos Aires, de 550 madres, de ciclo completo y manejo intensivo, que llevaba a cabo un plan de saneamiento para EA mediante la utilización de vacuna y eliminación de animales positivos. El esquema de vacunación consistió en aplicar dos dosis del inmunógeno a los 50 y a los 70 días de vida a los cerdos de abasto, dos dosis separadas por 21 días a las cerdas de reposición interna al ingresar al plantel reproductor, una dosis preparto a las cerdas de plantel con 80 días de gestación, y dos dosis a los machos y abuelas de reposición externa en el momento del ingreso, separadas por 21 días; los machos se revacunaban cada 6 meses. Se estudiaron 196 sueros de animales vacunados obtenidos en 4 sangrados realizados en abril del 2017 (37 muestras), marzo de 2018 (66 muestras), octubre de 2018 (50 muestras) y mayo de 2019 (43 muestras). Se analizó cada suero por ELISA y luego por SN. Los títulos obtenidos por SN se categorizaron en títulos altos (64 a 256), títulos medios (8 a 32) y títulos bajos (2 a 4).

Resultados. **ELISA:** en el muestreo del año 2017 el porcentaje de positivos fue del 54,05%, el de sospechosos 5,41% y el de negativos 40,54%. Los resultados de principios y finales del año 2018 revelaron un 77,27% de animales positivos, 3,03% de sospechosos y 19,70% de negativos en marzo, y en octubre solo un 8% de los cerdos analizados fueron positivos. En el muestreo de mediados de 2019 ya no se hallaron resultados positivos o sospechosos. **SN:** en 193 animales vacunados, 114 fueron ELISA negativos, es decir que no tuvieron contacto con el virus de campo (3 muestras contaminadas no se analizaron); en ellos el 44,7%, presentaron Ac seroneutralizantes y un 55,3% de los cerdos no desarrollaron títulos detectables. Los niveles de Ac seroneutralizantes alcanzados con la vacunación

en estos cerdos no infectados fueron altos en un 25,49% de los animales, medios en el 56,84% y bajos en el 17,7% restante. En los 79 animales vacunados sospechosos y positivos a ELISA (se unen sospechosos y positivos, todos se consideran infectados con VEA en situación de granja en saneamiento) se detectaron títulos altos en 48 de 76 cerdos (63,16%), medios en 25 de 76, (32,89%) y bajos en 3 de 76 (3,95%). Desglosando los resultados por sangrado, se vio que los títulos altos conformaron el 50% en el primer muestreo, el 46,15% en el segundo, el 18,18% en el tercero y el 5,26% en el último. En el caso de los títulos medios los resultados de cada sangrado fueron 37,5%, 53,85%, 63,64% y 63,16% respectivamente. Los títulos bajos representaron el 12,5% en el primer sangrado, el 18,18% en el tercero y el 31,58% en el cuarto, no registrándose ningún cerdo con este tipo de títulos en el tercer sangrado.

Discusión y conclusiones. Se investigó a través de la SN el título de Ac generado en animales vacunados analizados previamente por ELISA que los clasificó en cerdos infectados vacunados y cerdos no infectados vacunados. Comparando los títulos de cerdos no infectados vacunados con los encontrados en cerdos infectados, fueron más altos en estos últimos, lo que es esperable por la mayor estimulación antigénica producida por el contacto con el virus más la vacuna. Los títulos registrados en cerdos no infectados fueron predominantemente medios, le siguieron los altos y en último lugar los bajos. Al evaluar los niveles de Ac seroneutralizantes en los sucesivos sangrados de la granja se pudo observar la tendencia a que, a medida que fue disminuyendo la cantidad de animales infectados, los títulos de los cerdos no infectados tendieron a ser cada vez más bajos. Pudo observarse una marcada negativización en los resultados de ELISA en los sucesivos muestreos. Fue interesante la dinámica de desarrollo de los Ac seroneutralizantes a medida que se saneaba la piara: estos títulos protectores tendieron a descender a medida que se avanzaba con el plan y quedaban menos infectados en la granja, posiblemente por falta de estímulo del sistema inmune por ausencia de circulación viral.

Es necesario enfatizar que a pesar de que muchos animales no generaron Ac detectables, seguramente por el tipo de vacuna inactivada utilizada, ésta y otras granjas que aplicaron tanto un esquema de vacunación completo como medidas de manejo adecuado (las dos cosas deben complementarse) pudieron erradicar la EA. Para concluir puede decirse que:

- los títulos seroneutralizantes en cerdos infectados o ELISA positivos y vacunados fueron muy variables, encontrándose dentro de un rango de 2 a 256, siendo altos en su mayoría;
- los títulos seroneutralizantes en cerdos no infectados o ELISA negativos y vacunados, se encontraron predominantemente en un rango de 8 a 32, y en casi un 50% de estos animales no se detectaron anticuerpos seroneutralizantes.

Bibliografía

- 1- Davison, A.J. y col. (2009). Aujeszky's disease. Diseases of Swine. 11ª edición. Zimmerman JJ. 35: 548-561. ISBN 9781119350903.
- 2- Servicio Nacional de Sanidad Animal y Calidad Agroalimentaria (2009). Resolución 474/2009. <http://www.senasa.gob.ar/normativas/resolucion-474-2009-senasa-servicio-nacional-de-sanidad-y-calidad-agroalimentaria>
- 3- Kimman, T. y col (1992). Role of different genes in the virulence and pathogenesis of Aujeszky's disease virus. Vet. Microbiol. 33:45-52.
- 4- Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) (2012). Enfermedad de Aujeszky. "Manual Terrestre". Capítulo 2.1.2. www.oie.int

V7-ESTOMATITIS PAPULAR BOVINA EN TERNEROS DE UN TAMBO EN LA PROVINCIA DE CÓRDOBA

G Magnano¹, C Filipetti², A Peralta³, D Lando⁴, A Macías¹, E Sticotti¹, M Mació¹, J Giraudo¹

¹Departamento de Patología Animal, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto. ²Médico veterinario, Actividad privada, Ballesteros Córdoba. ³Instituto de Biotecnología IABIMO (INTA-CONICET). ⁴Laboratorio LASA Río Cuarto. gmagnano@ayv.unrc.edu.ar

Introducción. La Estomatitis Papular Bovina (BPSV) es una enfermedad viral que afecta especialmente a terneros. Se caracteriza por la formación de pápulas o nódulos en morro, labios, lengua y mucosa oral. El agente causal pertenece al género Parapoxvirus, familia Poxviridae, tiene una distribución mundial y son muy resistentes a las condiciones ambientales. En Argentina, el registro más reciente es del año 2019 en la provincia de Salta. Se comunica un caso de estomatitis papular bovina observada en terneros.

Materiales y métodos. El establecimiento lechero se ubicaba en Ballesteros, Córdoba. En ese momento contaba con 600 vacas en ordeño, con partos estacionados durante 10 meses, entre febrero y noviembre. La crianza artificial era en corrales comunitarios de 12 terneros cada uno, alimentándolos con leche cruda mediante un sistema de baldes con tetinas. El cuadro clínico comienza en el mes de septiembre de 2020, afectando inicialmente a terneros de 3-4 semanas de vida. En pocos días unos 50 animales, de un total de 100, presentaron síntomas, incluidos varios de una semana de vida. Seis murieron, principalmente de este último grupo, por no poder alimentarse sumado a un cuadro de diarrea. Las lesiones externas se circunscribían exclusivamente a morro y boca. Iniciaban como placas enrojecidas, planas, circulares, de 0.5 a 1 cm, que posteriormente tomaban aspecto proliferativas y costrosas (Figura 1). Todo este proceso patológico transcurría entre 10 y 15 días. En ningún momento las lesiones presentaron estadios vesiculares. Al inicio del cuadro, sin tener un diagnóstico de certeza, algunos animales afectados se trataron con antibiótico Tulatromicina sin respuesta favorable. También se aplicó una dosis de vacuna contra papilomatosis. Se realizó la necropsia de dos animales afectados, recolectando muestras para estudios histopatológicos, virológicos, bacteriológicos y moleculares. Se efectuaron cultivos bacterianos de rutina en Agar sangre y Mac Conkey de órganos y test rápido inmunocromatográfico de materia fecal para detectar *Cryptosporidium parvum*, Coronavirus bovino, E. coli-K99 (F5), Rotavirus y Giardias. Muestras de piel afectada se procesaron para extraer el ADN mediante un kit comercial "QIAamp DNA mini kit" de QIAGEN. El ADN obtenido fue analizado por la técnica de PCR basada en los primers PPP1 y PPP4, que amplifica una región interna del gen B2L (de 590pb) para identificar la presencia de genoma de Parapoxvirus. El producto de amplificación fue secuenciado para su identificación. La secuencia de nucleótidos resultante fue alineada con secuencias disponibles de Parapoxvirus, usando el programa BioEdit.

Resultados. En los dos animales necropsiados, no se observaron lesiones macroscópicas en órganos internos. Los resultados de los cultivos bacterianos y del test inmunocromatográfico fueron negativos. El estudio histopatológico de la piel afectada, reveló leve hiperemia, núcleos retraídos y necrosis celular de capas superficiales de epidermis con estructuras acidófilas compatibles con cuerpos de inclusión intracitoplasmáticos. En dermis se observó reacción inflamatoria con células mononucleares. Una muestra de tejido resultó positiva a la PCR. La secuenciación permitió realizar un alineamiento con secuencias de Parapoxvirus disponibles en el Gen Bank y obtener una matriz de identidad. Este análisis evidenció una identidad nucleotídica del 99% con otros BPSV conocidos y una identidad de 84% y 85% con los otros miembros del género Parapoxvirus: virus Orf y Pseudocowpox respectivamente.

Discusión y conclusión. Los antecedentes clínico-epidemiológicos y los resultados de laboratorio, permiten concluir que el caso se correspondió con BPSV. Si bien ha sido reportada en Argentina, no es frecuente su ocurrencia y se

considera importante tenerla presente en el diagnóstico diferencial de enfermedades compatibles con fiebre aftosa, de la cual nuestro país es libre. El manejo de partos estacionados, permitió realizar un vacío sanitario durante dos meses en los cuales no hubo nacimientos de terneros. Se desinfectaron utensilios y baldes con tetinas donde se alimentaban, y eliminaron todos los materiales en contacto. Se incorporó también la aplicación de una dosis de Ivermectina (1 cc cada 50 kg de peso) al nacimiento. Todo el personal fue capacitado sobre las medidas sanitarias adecuadas para evitar la transmisión de la enfermedad. Durante el siguiente año, no se registraron nuevos episodios.

Bibliografía

- Inoshima, Y., Morooka, A. y Sentsui, H. (2000). Detection and diagnostic of parapoxvirus by the polymerase chain reaction. J. Virol. Methods 84:201-208.
- Micheloud, J., Aguirre, L., Sandoval, G., Avellaneda Cáceres, A., Diodati, J., Peralta, A. (2019). Detection and first molecular characterization of bovine papular stomatitis virus in dairy calves in Argentina. Tropical animal health and production:1-7.



Figura 1

V8-CORONAVIRUS CANINO COMO VIRUS MODELO PARA LA EVALUACION DE ACTIVIDAD ANTIVIRAL DE PRODUCTOS

V. Ruiz ^{1,2}, L. Franco ¹, I. Alvarez ^{1,2}.

1. Instituto de Virología e Innovaciones tecnológicas (IVIT) INTA-CONICET
2. CONICET. alvarez.irene@inta.gob.ar

Introducción

Para evaluar los productos y/o procesos de manufactura respecto de su capacidad para inactivar o remover agentes virales, deben realizarse ensayos a escala laboratorio donde se contamina un material inicial con altas dosis infecciosas de distintos virus modelo, luego se aplica el producto o proceso a evaluar, y posteriormente se determina el virus remanente. El diseño del ensayo de validación debe realizarse de acuerdo al producto o proceso a evaluar, a la normativa nacional e internacional vigente, y de acuerdo a requerimientos específicos de cada elaborador. Para esto, pueden utilizarse distintos virus modelo, con distintas propiedades estructurales, de tamaño y de material genético.

En los últimos años muchos productos con propiedades antivirales han sido estudiados y desarrollados y se han establecido los métodos para evaluar su efectividad. En el contexto de la actual pandemia COVID19, el Coronavirus Canino (CCoV) fue seleccionados como virus modelo de SARS-CoV-2, para la estandarización de ensayos de validación. El virus CCoV pertenece a la Familia *Coronaviridae*, es un virus envuelto de ARN simple cadena.

En este estudio pusimos a punto diferentes ensayos de acuerdo a la normativa internacional para la evaluación de actividad antiviral de textiles y productos no-absorbentes usando el modelo de Coronavirus Canino.

Materiales y métodos

Se contaminaron áreas de ensayo del producto con actividad antiviral (TRATADO) con la suspensión de CCoV, luego de una incubación a diferentes tiempos a temperatura ambiente y humedad controlada, se recuperó el virus lavando las áreas de ensayos con diferentes medios neutralizantes. Áreas de ensayo sin tratamiento antiviral (CONTROL) fueron contaminadas con la suspensión de CCoV para evaluar la posible inactivación viral sin tratamiento. Una fracción del stock viral original de CCoV utilizado en la contaminación experimental fue ensayada simultáneamente con el resto de las muestras. Sobre cada una de las muestras tomadas, se realizaron ensayos de titulación viral por dosis infecciosas 50% en cultivo de tejidos (TCID₅₀), utilizando el estimador estadístico de Reed y Muench

Resultados

La infectividad viral de CCoV fue afectada por las condiciones experimentales tales como la concentración del stock viral, el tiempo de contacto, el tipo de superficie, entre otros. Se estableció la relación de 100 µl/cm² de stock viral concentrado por área de superficie de prueba. Las incubaciones se hicieron en presencia de alta humedad relativa. El mejor medio neutralizante resultó el medio de cultivo E+D con 2% de suero fetal bovino.

Conclusión

El CCoV se puede inactivar por contacto con el producto a evaluar, incluso en ausencia de agentes antivirales, por lo que es fundamental incluir controles de superficies sin tratamiento. Estos hallazgos indican que las condiciones de ensayo de evaluación de actividad antiviral deben elegirse cuidadosamente teniendo en cuenta el tipo de producto.

Bibliografía

- 1- Measurement test method of antiviral activity on porous products (textiles). ISO 18184.2019
- 2- Measurement of antiviral activity on plastics and other non-porous surfaces. ISO 21702.2019.

V9-DIARREA EN LECHONES: ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LOS CASOS REMITIDOS AL CENTRO DE MICROBIOLOGÍA BÁSICA Y APLICADA (CEMIBA) EN EL PERÍODO 2021

CG Aspitia^{1,2}, S Poljak², MA Quiroga², F Moredo³, MS Serena^{1,4}, MG Echeverría^{1,4}

¹Centro de Microbiología Básica y Aplicada (CEMIBA), Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata ²Laboratorio de Patología Especial Veterinaria Dr. Bernardo Epstein (LAPEVET), Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata. ³Servicio de Diagnóstico Bacteriológico y Antimicrobianos, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata. 60 y 118 S/N, La Plata, Buenos Aires. ⁴CONICET. carolina.aspitia@gmail.com.

Introducción. Los cuadros de diarrea en cerdos constituyen una de las principales limitantes en la rentabilidad de una explotación porcina como consecuencia de las pérdidas por aumento de la morbi-mortalidad, incremento en los costos de medicación y menor ganancia diaria de peso y conversión alimenticia (Sjölund y col., 2014). Los cuadros de diarrea generan una mayor mortalidad en lechones lactantes, sin embargo, revisten importancia en todas las categorías productivas. Dentro de los agentes más frecuentemente asociados a las diarreas neonatales (DN) podemos mencionar a *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens* tipos A y C, *Clostridium difficile*, *Cryptosporidium spp.*, *Cystoisospora suis*, Rotavirus y Coronavirus. Asimismo, los agentes virales mencionados pueden provocar diarreas al momento del destete (DPD) junto con cepas enterotoxigénicas de *Escherichia coli* (ETEC) (Cappuccio y col., 2009; Rhouma 2017). En general los agentes infecciosos involucrados en cuadros de diarrea pueden actuar solos o en infecciones mixtas; incluso combinados con factores no infecciosos como ambientales, de manejo, inmunitarios, entre otros. Si bien la etiología de las diarreas es compleja, los virus podrían ser el factor clave para su presentación ya sea por su rol como agentes primarios en el daño de la mucosa intestinal, o como predisponentes a infecciones secundarias por otros agentes infecciosos, como bacterias y parásitos (Lippke y col., 2011). Las lesiones que producen los diferentes virus que afectan al tracto digestivo, son difíciles de distinguir tanto macro como microscópicamente, por lo cual la identificación específica de cada uno requiere la aplicación de técnicas de diagnóstico como inmunohistoquímica, aislamiento viral y técnicas moleculares (Piñeyro y col., 2018). En el caso de los agentes bacterianos y parasitarios, si bien causan lesiones que orientan al diagnóstico etiológico, es necesaria la confirmación del mismo mediante aislamiento bacteriano, técnicas moleculares u observación directa (Sanz y col., 2007; Cappuccio y col., 2009). El objetivo del presente trabajo fue realizar un análisis descriptivo de la casuística y el diagnóstico de diarrea en lechones a partir del análisis de las muestras remitidas al Centro de Microbiología Básica y Aplicada (CEMIBA), FCV-UNLP.

Materiales y métodos. Se analizaron 9 casos remitidos al CEMIBA para el diagnóstico de diarreas virales en lechones. Los mismos se clasificaron según la categoría involucrada, correspondiendo a lechones de maternidad (< a 21 d) y lechones de recría o posdestete (> a 21d). Las granjas afectadas se localizan en la provincia de Buenos Aires y poseen un número < a 500 madres. Los signos clínicos recolectados de la historia clínica se caracterizaron en una diarrea acuosa amarillenta en lechones de 2-3 días de edad, y de diarrea acuosa marrón claro en los cuadros entéricos de recría. Todas las muestras remitidas fueron tomadas a partir de animales con diarrea. Se recibieron un total de 16 muestras de materia fecal de animales individuales representando un 67% de las muestras analizadas; 7 muestras correspondientes a trozos de intestino delgado y grueso de lechones (29%) y 1 pool de materia fecal representando un 4% del total de muestras. Además, se incluyeron los casos remitidos para histopatología, estudios bacteriológicos y/o parasitológicos. En el CEMIBA las muestras de materia fecal y/o contenido intestinal fueron diluidas 1/10 con PBS estéril, centrifugadas a 2000 rpm durante 10 min, para luego a partir del sobrenadante proceder a la extracción de ARN con DNazol (Bio-lógicos). Posteriormente se obtuvo el cDNA utilizando random primers y enzima MMLV (Promega) según el protocolo sugerido por el fabricante. Para el caso de Rotavirus A se realizó la detección del genoma viral mediante PCR amplificando un fragmento correspondiente a la proteína NSP5. Para el caso de Coronavirus, en primer lugar, se realizó la detección genérica utilizando primers degenerados para el fragmento

correspondiente a la polimerasa (Pancoronavirus) y las muestras positivas fueron analizadas con primers específicos para la detección de TGE y PED.

Resultados. Del total de casos analizados (n=9), el 33,3% perteneció a la categoría maternidad, y el 66,6% a la categoría recría. El 80% de los casos pertenecientes a esta última resultaron positivos a algún agente viral (Rotavirus A, Coronavirus). En los casos de maternidad no se detectaron agentes virales, sin embargo, en 1 de los casos se detectó *Cryptosporidium spp* (25%) y en dos de ellos *E. coli* (toxina Stb). Se determinó que el 44% (n=4) de los casos correspondieron a diarreas de causa viral (3 casos de Rotavirus A, y 1 caso de coinfección de Rotavirus A y Coronavirus). En el 22% de los casos (n=2) no se arribó a un diagnóstico etiológico. Además, se observaron lesiones histopatológicas compatibles con infecciones virales en el 33% de los casos (n=3), sin embargo, no se pudo identificar el agente en uno de ellos.

Discusión y conclusión. Si bien existen varios estudios de casos aislados (Piñeyro y col., 2018) no se dispone, particularmente en relación a los agentes virales, datos suficientes en nuestro país referente a la participación y al impacto de los virus en el desarrollo de cuadros clínicos y subclínicos de las diarreas en explotaciones intensivas. A su vez, es necesario hacer énfasis en la importancia de caracterizar los cuadros de diarrea neonatal presentes en nuestro país para poder diseñar estrategias de control y prevención en relación al estatus epidemiológico actual. El presente análisis puso en evidencia que los agentes virales son una causa importante de diarrea en lechones. Si bien el número de casos que se remite para diagnóstico etiológico específico es escaso, este estudio demuestra la importancia de que los veterinarios incluyan en forma rutinaria la toma de muestra y envío al laboratorio para obtener un diagnóstico definitivo. La relación entre la presencia de agentes virales y las granjas de menos de 500 madres podría deberse a la menor tecnificación e implementación de medidas de bioseguridad, que revisten gran importancia en cuanto a la prevención de estos agentes. Asimismo, cabe destacar que, a los efectos de establecer un diagnóstico etiológico de las diarreas infecciosas, resulta indispensable realizar un abordaje multidisciplinario remitiendo muestras no solo para histopatología sino también para otros estudios diagnósticos complementarios.

Bibliografía

- Cappuccio, J.A. y col., Braz, J. (2009). Vet. Pathol. 2:35-40.
- Lippke, R. y col. (2011). Pesq. Vet. Bras. 31(6):505-510.
- Piñeyro, P.E. y col. (2018). BMC Veterinary Research. 14:292.
- Sjölund, M. y col. (2014) 6th European Symposium of Porcine Health Management.
- Rhouma, M. y col. (2017). Acta Vet Scand 59:31.

V10-PUESTA A PUNTO DE UNA PCR EN TIEMPO REAL PARA LA DETECCIÓN DE DNA DEL PARVOVIRUS EQUINO-HEPATITIS (EqPV-H)

V. Ruiz¹ y I. Álvarez¹.

¹Laboratorio de Virus Adventicios, Instituto de Virología e Innovaciones Tecnológicas (IVIT), INTA-CONICET.

ruiz.vanesa@inta.gob.ar

Introducción. La enfermedad de Theiler, también conocida como hepatitis sérica equina o enfermedad hepática aguda idiopática, es una enfermedad grave en caballos adultos, y a menudo potencialmente mortal, que fue descrita por primera vez en 1918 en Sudáfrica por Sir Arnold Theiler. Esta enfermedad es una de las causas más comunes de hepatitis aguda y falla hepática en caballos y se ha descrito con mayor frecuencia luego de la administración de algún producto biológico producido a partir de sangre equina, tal como antitoxina tetánica, antitoxina botulínica, plasma equino, antisero de *Streptococcus equi* y preparaciones de células madre alogénicas. Sin embargo, esta enfermedad también ha sido reportada en caballos sin antecedentes de administración de productos biológicos equinos, así como en animales que estuvieron en contacto con casos de enfermedad de Theiler. Estudios recientes han aportado fuerte evidencia de que la enfermedad de Theiler es causada por un nuevo parvovirus, el Parvovirus Equino-Hepatitis (EqPV-H, del inglés Equine Parvovirus-Hepatitis) [1, 2]. Desde su descripción en 2018, la infección por EqPV-H fue detectada en Estados Unidos, Canadá, China, Alemania, Eslovenia, Austria y recientemente en Brasil, con una prevalencia de ADN entre el 7-17% y una seroprevalencia entre 15-34% en caballos clínicamente sanos. Esta prevalencia es mucho mayor cuando se analizan animales con enfermedad de Theiler, alcanzando valores entre el 47-100% [2]. Se ha reportado también la presencia de ADN de EqPV-H en lotes de suero equino comercial, provenientes de Nueva Zelanda, Italia, Alemania, Estados Unidos, Canadá y México [3]. Los caballos con EqPV-H pueden ser portadores sanos sin signos clínicos, por lo que podrían servir como reservorios para la infección de otros caballos. Para evaluar el riesgo de transmisión de EqPV-H por la administración de productos biológicos equinos, el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) recomienda el análisis de los productos derivados de sangre equina mediante PCR en tiempo real. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo consiste en la puesta a punto de una qPCR para la detección de DNA del EqPV-H en suero y/o plasma equino.

Materiales y métodos. Para la puesta a punto de la qPCR de EqPV-H se siguió el protocolo desarrollado por el Centro de Biológicos Veterinarios (CVB) del USDA, el cual se basa en la publicación de Tomlinson y colaboradores (4). Se utilizaron los cebadores EqPV-3218F (5'-ATGCAGATGCTTTCCGACC-3') y EqPV-3386R (5'-GCCCCAGAAACATATGGAAA-3'), que amplifican un fragmento de 169 pb de la proteína de la cápside (VP1), y la sonda EPV-3310 (5'-FAM-ACCGTAGCGGATTCGGGATCTGC-BHQ1-3'). Se utilizaron controles negativos y positivos de extracción de ADN y de PCR. Como control negativo se utilizó un pool de suero normal equino. El control positivo se preparó a partir del suero normal equino (control negativo) contaminado experimentalmente con 10⁵ copias del plásmido control pEqPVH3. Este plásmido, se utilizó también para generar la curva estándar de la qPCR con diluciones de 14,5x10⁶ - 14,5x10⁰ copias/reacción. Las extracciones de DNA se realizaron con el kit High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche). La reacción de qPCR se realizó en el termociclador StepOne Plus (Applied Biosystems) en un volumen de 20 µl, con la master mix iTaq Universal Probes Supermix (Biorad), una concentración final de 0,4 µM de cebadores y sonda, y 5 µl de DNA. Las condiciones de ciclado fueron: un ciclo de 95 °C durante 5 min; seguido de 45 ciclos de 95 °C por 30 seg y 58 °C por 1 min. Los puntos de la curva estándar se corrieron por triplicado, y las muestras, controles (positivo y negativo) y

blanco (sin templado) por duplicado. Para cada caso se determinó el Cycle threshold (Ct). A partir de los valores de Ct de la curva estándar se determinó la linealidad, la eficiencia y

el rango dinámico. Se establecieron los criterios de conformidad del ensayo basados en las recomendaciones dadas por Bustin y col. [5]. Se determinó la sensibilidad analítica, la especificidad y reproducibilidad de la técnica. Para evaluar la performance de la qPCR en muestras biológicas, se realizaron contaminaciones experimentales de fracciones de suero normal equino con plásmido pEqPVH3 en distintas concentraciones, se realizó la extracción de DNA y posteriormente se analizaron por qPCR. Finalmente, se analizó un panel de proficiencia provisto por el CVB-USDA, compuesto por 10 sueros equinos y 3 muestras de DNA.

Resultados. En primer lugar, se comprobó la especificidad de los cebadores realizando un PCR convencional con el plásmido pEqPVH3, obteniéndose una única banda de amplificación del tamaño esperado (169 pb). Las curvas estándar obtenidas con el plásmido pEqPVH3 en 3 ensayos independientes presentaron, en promedio, una linealidad ($r^2 = 0.992$) y eficiencia (97,5%) dentro de lo esperado. El rango dinámico se definió entre 14,5x10¹ y 14,5 x10⁶ copias. La sensibilidad analítica de la qPCR se evaluó con los puntos de la curva estándar construida con el plásmido pEqPV-H con diluciones de 14,5x10⁶ - 14,5x10⁰ copias/reacción. Se consideraron entre 5 y 7 replicados. La qPCR resultó positiva para todas las réplicas de 14,5x10¹ copias/reacción o mayores. La reproducibilidad fue determinada de acuerdo al nivel de variabilidad del Ct obtenido de los replicados de cada muestra de la curva estándar correspondientes a 3 ensayos independientes. Los valores obtenidos fueron en el rango de 0,74 a 7,5 %. La especificidad analítica de la técnica fue ensayada utilizando muestras de DNA de virus relacionados: Herpesvirus Equino tipo 4, Adenovirus Equino, Parvovirus bovino, Parvovirus porcino. En todos los casos las muestras resultaron "no detectadas". Los resultados de la qPCR para las muestras del panel de proficiencia del USDA concordaron 100% con lo esperado.

Discusión y conclusión. Se ha logrado poner a punto un ensayo de qPCR sensible y específico para la detección de genoma de EqPV-H en muestras biológicas. Esta metodología permitirá detectar el estado de infección de los animales, así como productos biológicos de origen equino, con el objetivo de conocer el estado de situación de la infección por EqPV-H y establecer medidas de control en caso de ser necesario.

Bibliografía

- 1- Divers *et al.* (2018) A new parvovirus associated with serum hepatitis in horses following inoculation of a common equine biological. *Emerg Infect Dis* 24:303-310.
- 2- Ramsauer *et al.* (2021) Equine Parvovirus Hepatitis. *Equine Vet J* 53:886-894.
- 3- Meister, T.L. *et al.* (2018) Equine Parvovirus-Hepatitis Frequently Detectable in Commercial Equine Serum Pools. *Viruses* 11:1-9.
- 4- Tomlinson *et al.* (2019) Viral testing of 18 consecutive cases of equine serum hepatitis: A prospective study (2014-2018). *J Vet Intern Med* 33:251-257.
- 5- Bustin *et al.* The MIQE Guidelines: Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments. *Clinical Chemistry* 55(4):611-22.

MISCELÁNEAS

X1-VALORES HEMATOLÓGICOS DE GAVILANES MIXTOS (*Parabuteo unicinctus*) EN CAUTIVIDAD Y SILVESTRES QUE INGRESARON EN CUARENTENA. RESULTADOS PRELIMINARES

Zerpa C¹, Ciminari J², Pidone CL³

¹Ecoparque Mendoza; ²Cátedra de Bioestadística y ³Cátedra de Enfermedades Infecciosas, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Rosario. corina_zerpa@hotmail.com

Introducción. La determinación de parámetros sanguíneos en aves ha sido utilizada para estudiar las adaptaciones fisiológicas que facilitan el empleo de determinados hábitats, así como el estado nutricional y salud de una especie. Para ser considerada la liberación de aves rapaces en rehabilitación es imprescindible que se hayan recuperado de su lesión inicial, además de estar clínicamente sanas. En estos casos los valores hematológicos son una herramienta importante y además constituyen un aporte de referencia. La carencia de estudios locales trae como consecuencia la utilización de parámetros hematológicos correspondientes a bases de datos externas donde no se especifica cierta información que puede generar variabilidad. El objetivo del presente trabajo fue determinar los valores hematológicos de gavilanes mixtos (*Parabuteo unicinctus*) en cautiverio y los que ingresaban en cuarentena, con la finalidad de generar una base de datos para la provincia de Mendoza y realizar un estudio comparativo de los datos obtenidos en ambos grupos.

Materiales y métodos. El estudio fue llevado a cabo en las instalaciones del Ecoparque Mendoza (32°53'04"S 68°53'21"O) ubicado en la ladera este del cerro de la Gloria dentro del predio del Parque General San Martín. A todos los gavilanes mixtos clínicamente sanos que se encontraban en el plantel de la institución y a los que ingresaron en cuarentena se les efectuó un examen clínico, se registró su peso y se les realizó la extracción de sangre. Se muestrearon 27 aves, 14 pertenecientes al plantel y 13 que ingresaron en cuarentena provenientes de la Dirección de Recursos Naturales de la provincia. La sangre fue tomada de la vena ulnar utilizando jeringa de tuberculina y aguja 25/8. La misma fue colocada en tubos con EDTA. También se registraron los valores de glucemia con glucómetro Accu-Check® Performa. La hematología fue procesada utilizando el método hematocimétrico con una cámara de Neubauer. Se colocaron 20 µl de sangre en un tubo con 4 ml de solución de Natt Herrick y se lo dejó 15 minutos, luego con un capilar se tomó una muestra y se la colocó en la cámara de Neubauer para proceder al conteo de glóbulos rojos y blancos. El recuento diferencial de leucocitos se realizó observando un frotis teñido con tinción 15 en microscopio óptico. Para el hematocrito se colocó la sangre en un capilar para microhematocrito y se centrifugó a 12.000 rpm durante 5 minutos. Las proteínas totales plasmáticas fueron medidas con refractómetro donde se colocó una gota de plasma. Se realizó el cálculo de la media ($\bar{x}$) y el desvío estándar (DS) de los datos obtenidos, y luego se aplicó un test de diferencia de medias para muestras independientes, analizando previamente la homogeneidad de las variancias. Todos los tests se realizaron con un nivel de significación del 5%. Se utilizó el programa Excel.

Resultados. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla N°1.

Tabla N°1: Valores hematológicos de gavilanes mixtos (*Parabuteo unicinctus*)

Test	Gavilanes en cuarentena		Gavilanes cautivos		Test de Diferencia de Medias
	Media	DS	Media	DS	
Hto (%)	26,4	6,3	28,9	6,7	0,161
Proteínas totales	3,6	1,6	4,3	1,2	0,123

Glucemia (mg/dl)	267	19,6	282	36,8	0,099
Recuento GR (en millones)	1,79	0,91	3,07	1,27	0,004*
Recuento leucocitos	12797	10932,1	9051	8318,6	0,166
Heterófilos (10 ³ /µl)	7961	7960,2	3123	3041,7	0,024*
Heterófilos (%)	62,1	17	37,4	17,1	< 0,001*
Linfocitos (10 ³ /µl)	1815	1369,1	4446	4949,5	0,038*
Linfocitos (%)	20,7	16,1	42,8	19,9	0,003*
Monocitos (10 ³ /µl)	1009	1408,3	640	736,2	0,21
Monocitos (%)	6,9	4,1	6,3	4,6	0,37
Eosinófilos (10 ³ /µl)	731	552,7	863	611,8	0,405
Eosinófilos (%)	11,2	6,67	13,92	10,95	0,246

* Diferencia de medias estadísticamente significativas.

Discusión y conclusión. Los datos encontrados sobre el tema son escasos. Se observaron diferencias significativas en el número de eritrocitos, cuyo valor fue inferior en aves que ingresaron a cuarentena, y se estima que una causa puede ser que algunas de esas aves presentaron traumatismos; en cuanto al número de leucocitos, fue mayor en aves que ingresaron a cuarentena, probablemente por la presencia de algún agente infeccioso. En las aves mantenidas en cautiverio los valores de linfocitos superaron a los heterófilos; sería interesante realizar estudios posteriores a fin de determinar si puede estar relacionado con el estrés.

Bibliografía

- 1- Black, P., Mc Ruer, D.L., Horne, L.A. (2011) Hematologic parameters in raptor species in a rehabilitation setting before release. Journal of Avian Medicine and Surgery 25(3):192- 198.
- 2- Campbell, T., Dein, J. (1984) Avian hematology, the basics. Veterinary clinics of North America: small animal practice. Vol 14, N°2.
- 3- Mitchell, E., Johns, J. (2008) Avian hematology and related disorders. Vet. Clin. Exot. Anim. 11:501-522.
- 4- Polo, F.J., Celtran, J.F (1992) Peinado VI, Viscor G, Palomeque J. Hematological values for four species of birds of prey. The condor 94:1007-1013

**RESÚMENES TRABAJOS CIENTÍFICOS
NO ORIGINALES**

EPIDEMIOLOGÍA

E-I-DETECCIÓN DE *HELICOBACTER BIZZOZERONII* Y *HELICOBACTER FELIS* EN BIOPSIAS GÁSTRICAS DE PERROS

C. Guendulain¹; P. Tamiozzo²; M. Caffaratti¹; S. Babini¹.

¹Dpto. Clínica Animal, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto.

²Departamento Patología Animal, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto.
cguendulain@ayv.unrc.edu.ar

Introducción. Las bacterias *Helicobacter* no-*Helicobacter pylori* (HNHP) incluyen varias especies diferentes, tales como *H. suis*, *H. felis*, *H. bizzozeronii*, *H. salomonis*, *H. heilmannii sensu stricto* (s.s.), *H. cynogastricus* y *H. baculiformis*, algunas de las cuales colonizan el estómago del hombre y de los perros. La identificación de estas especies de *Helicobacter* en perros es importante debido a que existen evidencias sustanciales del potencial zoonótico de algunas de ellas, tales como *H. felis* y *H. bizzozeronii*, a pesar de su baja prevalencia³. No existe información acerca de las especies predominantes en los perros del país y región y de las características de la población afectada. El objetivo del trabajo fue detectar mediante PCR, HNHP en biopsias gástricas de perros y evaluar su asociación a la raza, edad y sexo.

Materiales y métodos. Se tomaron biopsias gástricas mediante endoscopia a 50 perros ingresados a cirugía por diferentes patologías, sin antecedentes de enfermedades gástricas, ni signos clínicos relacionados. La edad de los perros fue entre 2 meses y 14 años, 10 de razas puras y el resto mestizos y con respecto al sexo fueron 29 machos y 21 hembras. El ADN de las muestras fue extraído con kit comercial (DNAzol, Invitrogen, EUA) y para la detección de HNHP a nivel de género, se amplificó mediante una PCR tamiz un fragmento del gen 16SRNAr con los cebadores y condiciones previamente descritas¹. Las muestras positivas fueron luego analizadas para determinar la presencia de *H. bizzozeronii* y *H. felis* con los cebadores Fe1F, Fe3R, Bi1F y Bi2R y las condiciones previamente descritas. Los controles positivos fueron cedidos por la Universidad de Buenos Aires, Argentina y la Universidad de Ghent, Bélgica. De las muestras positivas a la PCR tamiz para HNHP y negativas a *H. bizzozeronii* y *H. felis*, se seleccionaron 9 al azar que fueron nuevamente amplificadas y los productos de la PCR fueron purificados (Puriprep-GP Kit, InbioHighway, Argentina), cuantificados y secuenciados (ABI 3130xl; Applied Biosystems, EUA). Las secuencias se visualizaron con el software BioEdit y alineadas con las bases de datos disponibles utilizando el software BLAST. Se calculó la prevalencia de HNHP total y según sexo, edad y raza y se determinó el IC de la prevalencia de perros positivos a HNHP, *H. bizzozeronii* y *H. felis* utilizando el programa Epidat. Para determinar asociación entre HNHP y edad, raza y sexo se calculó la razón de prevalencia. Con los datos obtenidos se determinó el perfil de riesgo de perros positivos a HNHP para esta población. Para ello, las variables establecidas fueron: 1) Edad: mayor (> de 3,8 años) y menor (< 3,8 años) al promedio; 2) Raza: puros y mestizos; 3) Sexo: macho y hembra.

Resultados y discusión. La prevalencia cruda de HNHP fue del 58% -IC 95: 43,3-72,7%-, ligeramente menor a las informadas por otros autores en referencia a otras partes del mundo (60 -100%)^{2,4} y muy por debajo de la obtenida en países vecinos, ya que se han informado prevalencias del 96% en perros en Brasil, del 95% en Venezuela y entre un 75,9-100% en Chile. En concordancia con otros investigadores⁵ *H. bizzozeronii* fue identificado en el 28% de las muestras; esto reviste importancia, ya que se ha demostrado el potencial zoonótico de esta especie. Sólo el 4% de las muestras arrojaron resultado positivo a *H. felis*^{4,5} y no se observaron infecciones mixtas con *H. bizzozeronii* y *H. felis* como ha sido recientemente informado². Las secuencias del fragmento del gen 16SARNr de las 9 muestras analizadas al azar presentaron 99% de similitud

con más de 60 secuencias de *H. heilmannii*, *H. salomonis*, *H. cynogastricus*, *H. baculiformis* y *H. spp.* Debido al alto grado de similitud, entre el 93 y el 99%, en las secuencias del gen

16SRNAr con las especies anteriormente citadas, no se pudo determinar la especie. En cuanto a la raza, edad y sexo los resultados se muestran en la tabla 1.

Tabla 1: Raza, edad y sexo de los perros positivos a la presencia de *Helicobacter* spp. en las biopsias gástricas.

	Perros positivos a <i>H. spp</i>	<i>H. bizzozeronii</i>	<i>H. felis</i>
Puros	31.1%	28.6%	-
Mestizos	68.9%	71.4%	100%
Hembras	34.5%	35.7%	-
Machos	65.5%	64.3%	100%
< 3,8 años	48.3%	42.8%	100%
> 3,8 años	51.7%	57.2%	-

El perfil de riesgo de estos perros positivos a *Helicobacter* spp., fue: macho mestizo y mayor de 3,8 años. En cuanto a las razones de prevalencia, la asociación entre raza fue: 1,15 raza pura vs mestizos, edad: 1,24 más de 3,8 años vs menor de 3,8 años y sexo: 1,16 macho vs hembra. Respecto a la asociación entre la presencia de HNHP y la raza, sexo o edad, los animales en los que más frecuentemente se detectaron fueron en los machos mestizos, mayores de 3,8 años. Esto coincide con lo previamente informado por otros autores que detectaron el agente en perros jóvenes y viejos de ambos sexos³. Los resultados obtenidos generan antecedentes relevantes acerca de la presencia de HNHP en el país y en la región, dado que no se ha encontrado información alguna acerca de la identificación de *Helicobacter* a nivel de especie en Argentina ni en países vecinos, lo que resulta fundamental para determinar la significancia clínica de cada especie, tanto en animales como en el hombre.

Conclusión. El presente trabajo es el primer estudio reportado para la identificación de HNHP a nivel de especie en perros en el país. Se concluye que los perros bajo estudio presentan HNHP y que *H. bizzozeronii* predomina sobre *H. felis*, sin el hallazgo de infecciones mixtas. Los perros en los que más frecuentemente se encontraron los HNHP fueron machos mestizos, mayores de 3,8 años.

Bibliografía

- 1- Al-Soud *et al.* (2003) Assessment of PCR-DGGE for the identification of diverse *H.* species, and application to faecal samples from zoo animals to determine *H.* prevalence. J Med Microbiol 52: 765-771.
- 2- Amorim *et al.* (2015) Presence and significance of *H. spp.* in the gastric mucosa of portuguese dogs. Gut Pathog. 7:12.
- 3- Happonen *et al.* (1998) Detection and effects of *H.* in healthy dogs and dogs with signs of gastritis. J Am Vet Med Assoc 213 (12): 1767-1774.
- 4- Hwang *et al.* (2002) Prevalence and clinical characterization of gastric *H.* species infection of dogs and cats in Korea. J Vet Sci 3 (2): 123-133.
- 5- Winberg *et al.* (2005) Quantitative analysis of inflammatory and immune responses in dogs with gastritis and their relationship to *H. spp.* infection. J Vet Intern Med 19: 4-14.

E-II-TRANSFERENCIA DE INMUNIDAD PASIVA EN TERNEROS DE RODEOS LECHEROS CON CALOSTRADO NATURAL SUPLEMENTARIO

Martínez, R.¹, Morici, G.², Vilte, D.², Garro, C.²,

1. Becario PROCAGRA. Fundación ArgenINTA. 2. Instituto de Patobiología (CICVyA – INTA). garro.carlos@inta.gob.ar

Introducción. La transferencia de inmunidad pasiva a través de calostro materno es importante para la sobrevivencia de los terneros durante los primeros meses de vida (Donovan et al. 1998). La placenta bovina impide la transferencia de inmunoglobulinas (Igs) séricas durante la gestación. Sin embargo, el ternero neonato puede recibir inmunidad a través del calostro materno ingerido. Luego del nacimiento, la capacidad de absorber las Igs va disminuyendo y se incrementa la capacidad de digerir los componentes del calostro. La falla en la transferencia de inmunidad pasiva (FTIP) puede ocurrir por diversos factores como, por ejemplo: no consumir una cantidad y/o calidad adecuada de calostro materno. Pero aun controlando estos factores, diversas cuestiones pueden contribuir a la ocurrencia de FTIP. Nuestro objetivo fue estimar la prevalencia y los factores asociados a FTIP en terneros de rodeos lecheros que suplementan el amamantamiento natural con calostro bovino natural suministrado manualmente en las primeras 12 h de vida.

Materiales y métodos. Este estudio epidemiológico se realizó utilizando una base de datos que registró información de 2113 terneros de 5 rodeos lecheros de la provincia de Buenos Aires. Todos asesorados por único profesional veterinario. Entre el día 1 y 7 de vida del ternero, se colectó sangre por venopunción yugular y se cuantificó por refractometría la concentración de proteínas séricas totales (PST). Se consideró FTIP cuando el valor de PST fue $\leq 5,2$ g/dL (Calloway et al., 2002). Todos los rodeos compartían el mismo protocolo de manejo del periparto que incluía el suministro de calostro fresco obtenido mediante ordeño manual. La calidad del calostro fue controlada con un refractómetro de Brix y solo se utilizaron aquellos calostros con niveles $\geq 23\%$. Si el calostro materno no cumplía con este requisito, se recurría a un banco de calostro congelado de calidad controlada. Los terneros consumían en las primeras 12 horas de vida un volumen de calostro de $\sim 10\%$ del peso vivo utilizando una mamadera. Si el ternero no presentaba reflejo de succión, se realizó sondaje bucoesofágico. De cada ternero se registró la fecha de nacimiento, género, tipo de parto (normal vs asistido e individual vs mellizos). Se evaluó la asociación de estos factores con FTIP por regresión logística usando el software R (R Foundation for Statistical Computing).

Resultados y discusión. Este estudio investigó la ocurrencia de FTIP en rodeos lecheros con asesoramiento veterinario. La distribución de la concentración de PST se muestra en la Figura 1. La concentración media de PST fue de 5,8 g/dL (rango de 3,2 y 9 g/dL). La prevalencia general de terneros con FTIP fue del 26,5 % (562/2113). La prevalencia intra-rodeo fue del 20% (76/386), 25% (146/576), 25% (146/584), 32% (81/247) y 35% (113/320). La prevalencia general de FTIP en este estudio fue similar a la reportada en rodeos lecheros de Nueva Zelanda (Lawrence et al. 2017), pero superior a la reportada por Canadá y EE. UU. (Trotz-Williams et al., 2008). Nuestros resultados sugieren que la FTIP tiene una elevada prevalencia en rodeos lecheros controlados y puede ser un importante factor de riesgo de morbilidad y mortalidad. Los terneros con FTIP son más susceptibles a las infecciones y los predispone a septicemias, neumonías y enteritis (Donovan et al. 1998). Nuestros hallazgos, son indicativos de la importancia de establecer protocolos de monitoreo del calostrado para reducir las problemáticas sanitarias de los terneros en crianza artificial. No se observaron diferencias significativas entre la ocurrencia de FTIP y la estación del año. Aunque otros estudios reportan que los meses con elevadas temperaturas ambientales se asocian a una menor calidad del calostro (Godden et al., 2019) que repercute sobre la FTIP, nosotros no lo pudimos evidenciar. Y esto podría deberse al estricto protocolo de control sobre la calidad del calostro suministrado. La asistencia al parto y el nacimiento de mellizos no incrementó el riesgo de FTIP en terneros. Esto podría deberse

a que los terneros que nacen con parto asistido o mellizos pueden recibir una mayor atención por parte de los encargados del manejo. Esta precoz atención involucra un rápido suministro de calostro mitigando quizás, los efectos del estrés del ternero. Otros estudios han demostrado que, aquellos terneros que consumen calostro en las primeras 6 horas de vida, tienen menor riesgo de FTIP que aquellos terneros que consumen calostro entre las 6 y 12 hs posteriores (Godden et al., 2019). Tampoco se observó asociación entre FTIP y el género de los terneros sugiriendo que terneros machos y hembras recibieron similar atención en el manejo del calostrado.

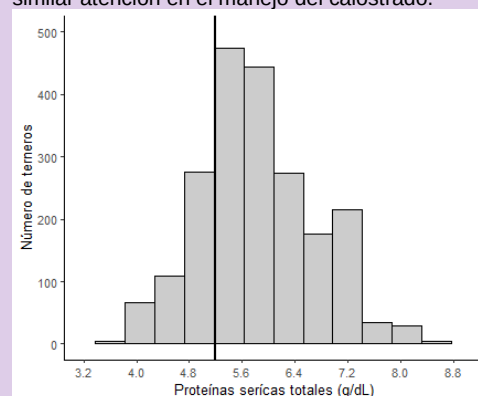


Figura 1: Concentración de proteínas séricas totales en 2113 terneros de 1 a 7 días de edad de cinco rodeos lecheros. La línea vertical negra representa el valor de 5,2 g/dL. En total, 562 (26%) terneros presentaron FTIP (PST $\leq 5,2$ g/dL).

Otros factores no evaluados en este estudio como el tiempo exacto entre el parto y el suministro de calostro y la calidad higiénico-sanitaria del mismo, podrían ser importantes en la ocurrencia de FTIP. Asimismo, otros factores vinculados a la madre que podrían afectar la FTIP podrían ser la edad, nutrición, inmunizaciones preparto, duración del período de seca, tiempo desde el parto al ordeño, etc. Futuros estudios epidemiológicos deberían evaluar la implicancia de estos factores sobre la FTIP ya que representa un serio problema sanitario en rodeos lecheros regionales.

Conclusiones. La FTIP es un problema importante en terneros de rodeos lecheros que complementan el amamantamiento natural con calostro natural bovino. Investigar los factores asociados a su ocurrencia podría establecer estrategias que limiten el impacto de esta problemática.

Bibliografía

- Calloway, C.D., Tyler, J.W., Tessman, R.K., Hostetler, D., Holle, J. (2002). Comparison of refractometers and test endpoints in the measurement of serum transfer status in calves 221, 1–4.
- Donovan, G.A., Dohoo, I.R., Montgomery, D.M., Bennett, F.L. (1998). Associations between passive immunity and morbidity and mortality in dairy heifers in Florida, USA. *Prev. Vet. Med.* 34,31–46.
- Godden, S.M., Lombard, J.E., Woolums, A.R. (2019). Colostrum Management for Dairy Calves. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 35, 535–556. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2019.07.005>
- Lawrence, K., Broerse, N., Hine, L., Yapura, J., Tulley, W.J. (2017). Prevalence of failure of passive transfer of maternal antibodies in dairy calves in the Manawatu region of New Zealand. *N. Z. Vet. J.* 65, 1–5. <https://doi.org/10.1080/00480169.2016.1224207>
- Trotz-Williams, L.A., Leslie, K.E., Peregrine, A.S. (2008). Passive immunity in Ontario dairy calves and investigation of its association with calf management practices. *J. Dairy Sci.* 91, 3840–3849. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0898>

INMUNOLOGÍA

IN-I-CARACTERIZACIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE MEDIADA POR CÉLULAS INDUCIDA POR LA PROTEÍNA PHOP EN LA INFECCIÓN POR *MYCOBACTERIUM BOVIS*

X Ferrara Muñiz ^{1,2}, W Márques da Silva ^{1,2}, H Carignano ³, SG Garbaccio ⁴, CJ Garro ⁴, MJ Zumárraga ^{1,2}, AA Cataldi ^{1,2} y ME Eirin ²
¹Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular (IABIMO), UEDD INTA-CONICET, Hurlingham, Bs. As., Argentina. ²CONICET, Argentina. ³Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Instituto de Genética (IGEAF), Hurlingham, Bs. As., Argentina. ⁴Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Instituto de Patobiología Veterinaria (IPVet), UEDD INTA-CONICET, Hurlingham, Bs. As., Argentina. ferrara.ximena@inta.gob.ar

Introducción. La tuberculosis bovina (TB) se diagnostica *in vivo* mediante la inoculación intradérmica de una mezcla antigénica compleja denominada derivado proteico purificado (del inglés *protein purified derivative*, PPD). Se han caracterizado nuevas moléculas¹, para complementar el rendimiento del PPD, o para el desarrollo de un diagnóstico diferencial en el marco de un potencial uso de candidatos vacunales como BCG². En nuestro país, se desarrolló un candidato vacunal experimental contra la tuberculosis bovina (TB)³ delecionado en el gen *phoP*, que codifica un miembro de un sistema regulador de dos componentes relacionado con la virulencia. Su estudio en el marco del desarrollo de un potencial diagnóstico diferencial entre animales vacunados e infectados resulta de interés. Se describió que PhoP induce respuesta humoral en humanos con tuberculosis⁴, pero no se caracterizó su potencial antigénico en bovinos. El objetivo del trabajo fue estudiar la respuesta inmune inducida por PhoP en la infección natural por *M. bovis*, con el fin de aportar datos novedosos acerca del potencial antigénico de esta proteína.

Materiales y métodos. Se realizó abordaje *in silico* con el fin de ponderar la especificidad e inmunogenicidad asociada a PhoP. Se comparó el porcentaje (%) de similitud de PhoP de *Mycobacterium bovis* con micobacterias que presenten $\geq 90\%$ de cobertura en los 247 aa, *Corynebacterium sp* y *Nocardia farcinica* (Protein BLAST). Se predijo la presencia de epitopes en el contexto del Antígeno Leucocitario Bovino de clase II (BoLA-II) (NetBoLAIIpan) seleccionando péptidos (15mer) con alta afinidad de unión (Rank% entre 0-2). PhoP recombinante (PhoPr) se expresó a partir del vector pET-15b-phoP (cedido por el Dr. Gonzalo Asensio), en *E. coli* BL21pLYs en LB, ampicilina (100µg/mL), IPTG (0.1mM). Se purificó por cromatografía de afinidad (ProteinSo Ni-NTA Resin, Biotech) y visualizó por WB (Mouse Mab Anti-polyHistidine, Sigma-Aldrich). Su identidad se confirmó por espectrometría de masas (Orbitrap, ThermoScientific, Q-Exactive). Se obtuvo 10mL de sangre heparinizada de vacas Holando-Argentino: 10 provenientes de zona/establecimiento libre de TB, 6 animales negativos a la intradermorreacción (IDR) (anérgicos) con presencia de lesiones compatibles con TB (LCTB)) y 7 animales positivos a la IDR con LCTB. La sangre se estimuló con PhoPr (10µg/mL), una proteína de fusión 3615c/ESAT6/CFP10 (CV) (10µg/mL) (cedida por el Dr. Vordermeier), PPDaviaryPPDbovina, PBS1X y un mitógeno (Pokeweed, PKW). Se utilizó Bovigam TB Kit (Thermo Fisher) para medir el IFN- γ en el sobrenadante. Se empleó un *cut-off* de 0,1. Se registró la magnitud de la respuesta (DO450nm) y frecuencia de animales respondedores (FR, número de animales con una DO450 $\geq 0,1$ para un determinado antígeno sobre el total de animales del grupo x 100). El análisis estadístico se realizó mediante el test de Kruskal Wallis y el *post test* de Dunn (GraphPad).

Resultados. El análisis *in silico* confirmó la presencia de PhoP en el genoma de *M. tuberculosis* y de 20 especies de micobacterias ambientales, *Nocardia farcinica* y *Corynebacterium sp.*, con un % similitud de la secuencia $\geq 75\%$ respecto de la proteína PhoP de *M. bovis* el 70% (16/23) de las secuencias de aminoácidos analizadas. Se identificaron 15 péptidos con restricción por el BoLA-II. Se obtuvo la proteína PhoPr con una concentración de 2.8µg/mL y con un grado de pureza que permitió su empleo en la estimulación de sangre. Respecto del IFN- γ en el grupo IDR+/LCTB, se observó una FR de 57,1% (4/7) para PhoPr y 85,7% (6/7) para la proteína de fusión CV, significativamente menores respecto del PPDbovina ($p=0,0083$), cuya FR fue del 100%. La magnitud de la respuesta fue significativamente menor para los antígenos recombinantes respecto del PPDbovina ($p=0,0083$). En el grupo de bovinos anérgicos IDR-/LCTB, se observaron valores de FR menores: 33% (2/6) para el antígeno PhoPr, y 50% (3/6) para la proteína de fusión (CV). No se detectaron diferencias significativas en la magnitud de la respuesta entre los antígenos recombinantes y el PPD bovina ($p=0,1989$). En animales del grupo IDR+/LCTB y anérgicos se observó una superposición de la respuesta respecto de los antígenos rPhoP y la proteína de fusión CV, con la excepción de un animal que solo reaccionó ante la estimulación con PhoPr. En los animales negativos no se detectó reactividad para los antígenos ensayados, con la excepción del mitógeno PKW.

Discusión y conclusión. Se demostró que la proteína PhoPr de *M. bovis* es inmunogénica y específica sugiriendo su posible empleo como antígeno en la prueba de IFN- γ . Si bien la FR de PhoPr fue menor a la obtenida con los antígenos CV y PPDbovina, PhoPr indujo respuesta en animales anérgicos, incluso en un caso en el cual ni el PPDbovina ni la proteína de fusión CV reaccionaron. Aunque preliminares, estos resultados sustentan la continuidad del estudio con el fin de caracterizar su potencial aplicación diagnóstica.

Bibliografía

- 1- Eirin *et al.* (2015). Identification and evaluation of new *Mycobacterium bovis* antigens in the *in vitro* interferon gamma release assay for bovine tuberculosis diagnosis. *Tuberculosis (Edinb)*;95(6):795-801.
- 2- Vordermeier *et al.* (2012). DIVA reagents for bovine tuberculosis vaccines in cattle. *Expert Rev Vaccines*;10(7):1083-91.
- 3- García *et al.* (2015). Evaluation of *Mycobacterium bovis* double knockout mce2-phoP as candidate vaccine against bovine tuberculosis. *Tuberculosis (Edinb)*;95(2):186-9.
- 4- Virdyarthi *et al.* (2017). Antibody response against PhoP efficiently discriminates among healthy individuals, tuberculosis patients and their contacts. *PLoS One*;12(3):e0173769.

PARASITOLOGÍA

P-I-TOXOPLASMOSIS CANINA. REPORTE DE UN CASO CLÍNICO EN LA ZONA SUR DEL CONURBANO BONAERENSE

De Felice L.A.^{1,3}, Gos M.L.^{1,2}, Cassagne P.^{3,4}, Retontali A.⁴, Unzaga J.M.¹, Venturini M.C.¹.

¹Laboratorio de Inmunoparasitología (LAINPA). Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. ²CONICET. ³Servicio de Oftalmología Comparada del Hospital Escuela. Facultad de Ciencias Veterinarias. UNLP. ⁴Actividad privada, Clínica de pequeños animales. ldefelice@fcv.unlp.edu.ar

Introducción. La toxoplasmosis es una zoonosis parasitaria de distribución mundial causada por el protozoo Apicomplexa, *Toxoplasma gondii*, el cual tiene la capacidad de infectar animales de sangre caliente, incluido el hombre. Los hospedadores intermediarios, entre ellos, los caninos, se infectan horizontalmente por la ingestión de tejidos que contienen quistes, por consumir agua o alimentos contaminados con oocistos y verticalmente por pasaje transplacentario de taquizoítos. En perros, la infección por *T. gondii* presenta bajas tasas de morbilidad y mortalidad. La aparición de signos clínicos se asocia a la edad y al estado inmunológico, siendo más frecuente en perros menores de 1 año y en general con antecedentes de moquillo canino (Distemper). En la toxoplasmosis clínica predominan las manifestaciones respiratorias y neuromusculares, sin embargo, se han reportado casos de enfermedad ocular y sintomatología cutánea generalmente asociada a inmunosupresión. El diagnóstico diferencial debe realizarse con *Neospora caninum*, protozoo íntimamente relacionado con *T. gondii*. En nuestro medio, la inmunofluorescencia indirecta (IFI) es la prueba más utilizada para detectar anticuerpos específicos en sueros de perros. El objetivo del presente trabajo es describir un caso de toxoplasmosis clínica en un canino de la localidad de J. M. Gutierrez (Berazategui), provincia de Buenos Aires.

Materiales y métodos. En el mes de enero de 2020 ingresó a la consulta un canino macho de raza Golden Retriever de 1 y ½ años con plan sanitario actualizado, sin antecedentes de enfermedades/traumatismos previos. El propietario describió una pérdida gradual del apetito, vómitos y dificultad para caminar en forma repentina. Su dieta habitual consistía en alimento balanceado y carne cruda/huesos de origen bovino. El paciente presentaba ataxia marcada, el examen neurológico mostró paraparesia con déficit en la propiocepción, no manifestó dolor espinal a la palpación. El estado mental y la evaluación de los nervios craneales fueron normales. Se realizó extracción de sangre para chequeo completo y diagnóstico serológico para toxoplasmosis/neosporosis. Se instauró tratamiento con dexametasona a dosis antiinflamatoria de 0.1 mg/kg (SC) cada 24 hs durante 2 días, clindamicina 25 mg/kg (oral) cada 12 hs durante 5 semanas y complejo vitamínico con hierro 5 ml (oral) cada 24 hs durante 1 mes. Luego de un intervalo de 4 semanas se envió la 2^{da} muestra de sangre al Laboratorio de Inmunoparasitología (FCV-UNLP) para el diagnóstico de toxoplasmosis/neosporosis por la técnica de IFI. Tres meses posteriores a la primera consulta el paciente concurrió a la veterinaria con conjuntivitis y edema corneal bilateral. En el examen oftalmológico se observó hiperemia conjuntival, congestión episcleral, edema corneal generalizado que no permitió explorar el segmento posterior y disminución de la presión intraocular, compatibles con un cuadro de uveítis bilateral. Se inició tratamiento tópico con una suspensión oftálmica de prednisolona acetato 1% + fenilefrina 0,12% y una solución oftálmica de tropicamina 1%. También se indicó prednisolona a dosis decreciente, omeprazol y doxiciclina por vía oral, durante 10 días. Se extrajo sangre para un 2^{do} chequeo completo (hemograma y bioquímica sérica). El seguimiento oftalmológico se realizó a los 7 y 21 días.

Resultados. En el primer estudio serológico se detectó un título de anticuerpos de 200 para toxoplasmosis y 50 para neosporosis. En el hemograma se observaron alteraciones en la serie roja que indicaron anemia regenerativa, anisocitosis y policromasia y en la serie blanca, monocitos reactivos. El suero presentó una ligera ictericia y aumento significativo de la fosfatasa alcalina (FAS). El diagnóstico serológico pareado presentó seroconversión para toxoplasmosis con un título de 6400, mientras que para neosporosis no hubo modificaciones con respecto a la 1^{er} muestra. El estado general del paciente mejoró y los signos neurológicos remitieron completamente luego del tratamiento específico con clindamicina. El 2^{do} estudio de sangre (hemograma y bioquímica) resultó sin particularidades. En cuanto a la sintomatología ocular, se observó remisión gradual de las alteraciones hasta la resolución total luego de 30 días postratamiento, por lo cual se decidió el alta médica del paciente.

Conclusión y discusión. En el presente caso de toxoplasmosis canina, la sintomatología clínica tanto neurológica como ocular coincide con lo descrito en la bibliografía. Aunque la transmisión de *T. gondii* se asocia principalmente a la ingesta de carne de origen porcino u ovino, debería considerarse la carne vacuna como una posible fuente de infección para los animales de compañía en nuestro medio, por ser ésta la de mayor consumo. Los hallazgos de laboratorio, así como la seroconversión con detección de un alto título de anticuerpos, sugieren una infección activa. El título de 50 para neosporosis podría representar una reacción cruzada en el diagnóstico serológico. En conclusión, ante un caso sospechoso de toxoplasmosis, es de gran importancia realizar una anamnesis exhaustiva, un examen clínico, neurológico y oftalmológico sistemático, así como el diagnóstico serológico de muestras pareadas para determinar la seroconversión e implementar el tratamiento en el momento adecuado. Además, deberían aplicarse medidas de prevención como la higiene ambiental y el acceso a una alimentación segura, ya sea mediante dietas comerciales o caseras, teniendo en cuenta para las últimas el correcto lavado de las verduras y la cocción a altas temperaturas (70-80°) o congelación a -18° durante 72 h de los productos cárnicos.

Bibliografía.

- Calero-Bernal, R.; Gennari, S.M. (2019) Clinical Toxoplasmosis in Dogs and Cats: An Update. Front. Vet. Sci.6:54.
- Kosec, G.; Hacin, B.; Sansom, P.G.; Weaver, G.; Dewhurst, E.; Carter, J.W. (2019) Prevalence of antibody seroconversion to *Toxoplasma gondii* in uveitis and non-uveitis dogs. Vet. Rec. Open; 6.
- Venturini, M.C.; Unzaga, J.M.; Basso, W.; Bacigalupe, D.; Larsen, A.; Pardini, L.; Moré, G.; Venturini, L. (2008) Neosporosis y toxoplasmosis en perros con signos clínicos en diez años de diagnóstico. XVII Reunión científica técnica AAVLD. UNL, Santa Fe. Argentina.

P-II-EVALUACIÓN DE UNA PRUEBA INTRADÉRMICA DE HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA EN VACAS HOLSTEIN NATURALMENTE INFECTADAS CON *Neospora caninum*

T. Tessi¹, F. Fiorani^{2,3}, K.M. Cirone^{1,3}, P. Ferreira¹, Y.P. Hecker², G.J. Cantón¹, E. Morrell¹, P.M. Corva³, D.P. Moore^{2,3*}

⁽¹⁾Grupo de Sanidad animal -INTA EEA Balcarce, CC 276 (7620), Balcarce, Buenos Aires. ⁽²⁾Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). ⁽³⁾Facultad de Cs Agrarias, Universidad Nacional Mar del Plata (UNMDP). moore.dadin@inta.gob.ar

Introducción. La neosporosis bovina es la principal causa de abortos de origen infeccioso en sistemas de producción lechera. Actualmente, el diagnóstico “*in vivo*” se realiza mediante la detección de anticuerpos (Ac) específicos contra *Neospora caninum*. Sin embargo, debido a la dinámica interacción huésped-parásito y a las características de la prueba de diagnóstico serológico utilizada, una proporción de animales infectados puede no ser detectada, generando resultados falsos negativos. Las pruebas intradérmicas de hipersensibilidad de tipo retardado (HTR) son una herramienta de diagnóstico para evaluar la respuesta inmune mediada por células, fundamental en la defensa del huésped infectado con *N. caninum*. Diferentes estudios sugieren que existen diferencias raciales en la respuesta inmune de los bovinos. Estudios previos describen el fenómeno de HTR en bovinos de razas carniceras luego de la aplicación intradérmica de componentes antigénicos del parásito, sin embargo, esta prueba no fue evaluada en bovinos de razas lecheras. El objetivo del presente estudio es evaluar una prueba HTR formulada con un lisado de taquizoítos de *N. caninum* en vacas Holstein naturalmente infectadas con el protozoo.

Materiales y métodos. Se utilizaron 26 hembras Holstein, multíparas y en lactancia pertenecientes al tambo de la EEA INTA Balcarce. Los animales fueron asignados a dos grupos experimentales de acuerdo a la presencia de Ac anti-*N. caninum*. De esta manera, un grupo compuesto por hembras positivas a Ensayo de Inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) en muestras de suero, ELISA en muestras de leche e inmunofluorescencia indirecta (IFI) (Grupo A; n: 13) y un grupo conformado por hembras negativas a las 3 técnicas antes mencionadas (Grupo B; n: 13). Todos los animales fueron inoculados por vía intradérmica (ID) en la región cervical (Figura 1) con un lisado de taquizoítos de *N. caninum* (cepa Nc-1) (150µg diluidos en 0,1 ml de PBS). Se registró el diámetro del pliegue cutáneo en el sitio de inoculación a las 0, 24, 48, y 72 horas post inoculación (hpi). Se evaluó la producción de Ac anti-*N. caninum* mediante ELISA en suero de todos los animales 30 días posinoculación intradérmica (dpi). Las diferencias en la medición del pliegue cutáneo se evaluaron empleando un modelo lineal general para medidas repetidas (Software R v.3.6.1) incluyendo al grupo y al tiempo pos inoculación como efecto fijo. Se fijó un $\alpha=0,05$.

Resultados y discusión. El crecimiento del pliegue cutáneo en el sitio de inoculación fue significativamente mayor en animales del grupo A a las 48 y 72 hpi en comparación con el grupo B, siendo las 48 hpi el momento de mayor crecimiento ($p < 0,05$) (Figura 2). Contrariamente, animales del grupo B no mostraron reacciones locales pos inoculación en ninguno de los tiempos analizados, coincidiendo con la ausencia de sensibilización previa ($p > 0,05$) (Figura 2). La evolución de la respuesta local concuerda con lo descrito para otras pruebas intradérmicas, donde las máximas reacciones se producen entre las 24 y 72 hpi. Finalmente no se observaron cambios en el estado de bovinos seronegativos 30 dpi, demostrando que inoculación intradérmica de un lisado de taquizoítos de *N. caninum* parece asegurar el mantenimiento del estado serológico sin interferir con el diagnóstico serológico.

Conclusiones. Los resultados sugieren que la inoculación intradérmica de componentes antigénicos de *N. caninum* estimula una reacción local en vacas Holstein naturalmente infectadas con *N. caninum*. Estos resultados demuestran que esta técnica podría complementar las actualmente utilizadas para detectar animales infectados con *N. caninum*. Por otro lado, estos resultados podrían colaborar en la comprensión de los mecanismos inmunes involucrados en la neosporosis bovina.

Figura 1: Sitio de inoculación intradérmica

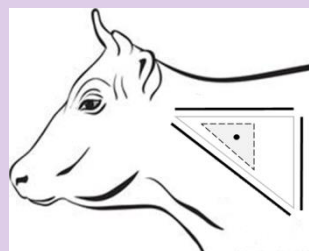
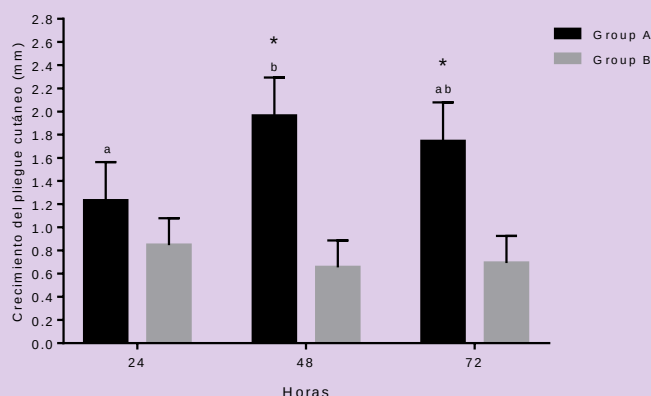


Figura 2: Crecimiento del pliegue cutáneo (mm) en el sitio de inoculación intradérmica.



* Diferencias significativas entre Grupos ($p < 0.05$).

^{ab} Letras diferentes indican diferencias entre Tiempo.

Bibliografía

- Black, C.A. (1999). Delayed type hypersensitivity: current theories with an historic perspective. *Dermatology Online J.* 57.
- Fiorani, F., Armendano, J.I., Hecker, Y.P., Araoz, V., Cantón, G.J., Corva, P.M., Odeón, A.C., Moore, D.P. (2019). Delayed type hypersensitivity induced by intradermal inoculation of a *N. caninum* tachyzoite antigen in previously exposed cattle. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 207, 31–35.
- Fiorani, F., Hecker Y.P., Cirone K.M., Armendano J., Gual I., Campero L.M., Wilkowsky S.E., Cobo E.R., Corva P.M., Morrell E.L., Cantón G.J., Moore D.P. (2020). Delayed-type hypersensitivity skin test against *Neospora caninum* in heifers with undetectable specific antibodies. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 72 101522.
- Guido, S., Katzer, F., Nanjiani, I., Milne, E., Innes, E.A. (2016). Serology-Based Diagnostics for the Control of Bovine Neosporosis, *Trends in Parasitology*. Elsevier Ltd.

P-III-DETECCIÓN DE SARNA SARCÓPTICA EN VICUÑAS SILVESTRES DE JUJUY, ARGENTINA

F. E. Sosa^{1,2} E. A. Bertoni³, J. F. Micheloud³, D. M. Medina Vallejo³, L. H. Olmos³, M. Florin-Christensen^{2,4}, S. R. Romero¹
¹IPAF NOA, Jujuy, ²CONICET, ³Área de Sanidad Animal-IIACS Salta/INTA, ⁴Instituto de Patobiología Veterinaria, CICVyA, INTA-Castelar, Buenos Aires. sosa.fabiana@inta.gob.ar

Introducción. Desde 2014, comunidades andinas de la puna de Jujuy practican la técnica del “chaccu” que consiste en la captura, esquila y liberación, de poblaciones de vicuñas en silvestría, para el aprovechamiento de su fibra. Este objetivo, como la vitalidad de estas poblaciones de vicuñas, puede verse afectado por la presencia de sarna en los animales. Esta enfermedad puede ser causada por ácaros de los géneros *Sarcoptes*, *Chorioptes*, *Psoroptes* y *Demodex* (Jarso et al. 2018), siendo *Sarcoptes scabiei* la especie más frecuentemente diagnosticada. La incidencia de esta enfermedad ectoparasitaria sigue siendo elevada en nuestros días, con un severo repunte en la población de mamíferos de vida libre (Astorga et al., 2018). Esto puede tener consecuencias devastadoras sobre la especie debido a la limitación de tratamiento (Pence y Ueckermann, 2002) afectando negativamente el bienestar y salud de las vicuñas. Este trabajo tiene por finalidad reportar los resultados de estudiar la presencia de sarna entre las vicuñas capturadas durante eventos de chaccu que tuvieron lugar en 12 localidades de la puna jujeña entre sept. y diciembre de 2019.

Materiales y métodos. Durante los eventos de chaccu que formaron parte de este estudio fueron capturadas 2.413 vicuñas, de las cuales 807 (33,4%) fueron seleccionadas al azar y examinadas en búsqueda de lesiones compatibles con sarna. Cuando se hallaron lesiones, se recolectaron raspados cutáneos y biopsias para su posterior análisis. Los raspados fueron observados al microscopio y se realizó la clasificación taxonómica de los ácaros de acuerdo a sus características morfológicas. Las biopsias conservadas en tubos con formalina tamponada neutra al 10%, se incluyeron en parafina, se seccionaron (3-5 µm) y se tiñeron con hematoxilina-eosina para examen microscópico. Por otra parte, se extrajo ADN genómico de pequeñas alícuotas (5-10 mg) de raspados de piel de lesiones compatibles con sarna pertenecientes a 6 vicuñas y se realizó una PCR buscando amplificar un segmento del gen *cox-1* específico de *S. scabiei* de 374 pb según lo describe Fraser et al. 2018. Las secuencias nucleotídicas de tres productos de amplificación, obtenidas por una firma comercial, fueron comparadas con las depositadas en GenBank por BLAST.

Resultados. Se hallaron en total 28 vicuñas con lesiones compatibles con sarna en tres localidades: Lagunillas del Farallón, Coyaguayma y Quera y Agua Caliente, con números de animales positivos sobre el total de inspeccionados de 23/101, 4/30 y 1/88, respectivamente. Las lesiones consistieron en zonas con alopecia total o parcial, eritema, exudación, hiperqueratosis, y lesiones costrosas sangrantes. La mayor parte de las lesiones se hallaron en la región esternal, región inguinal y miembros (anteriores y posteriores) y, en menor proporción, se hallaron lesiones en la región abdominal, axilar, genitales, perineo, rabo y rostro (Fig. 1).

La evaluación citológica en microscopio (400x) de los raspados de piel reveló la presencia de gran cantidad de ácaros de aproximadamente 0,1-0,4 mm de largo correspondientes a larvas, ninfas y adultos. En los adultos se observó idiosoma globoso con espinas triangulares en la superficie dorsal, gnatosoma ancho y extremidades posteriores cortas y gruesas, además del ano terminal, características de *S. scabiei* descritas por Cordero del Campillo et al., 2002 (Fig. 2). En las biopsias, se observó infiltración extensa de la dermis, diferentes estadios de hiperplasia y degeneración de la epidermis (tumefacción celular, espongirosis, cuerpos apoptóticos, acantosis e hiperqueratosis), hallándose de forma general una dermatitis hiperqueratósica mixta difusa. Se encontraron diferentes cantidades de ácaros pertenecientes a las tres

etapas del ciclo. No todas las muestras de piel mostraron hiperplasia de las glándulas sebáceas. El infiltrado inflamatorio consistió principalmente en linfocitos, neutrófilos y eosinófilos. También hubo pústulas y costras en algunas de las muestras estudiadas. Todas las muestras analizadas por PCR produjeron un producto de amplificación de 300-400 pb compatible con lo esperado. Las secuencias nucleotídicas obtenidas mostraron 100% de identidad con *cox-1* de *S. scabiei*.

Conclusión. Las evidencias, clínicas, patológicas y parasitológicas permitieron llegar a la conclusión de que el agente causal de los casos de sarna hallados en vicuñas de la puna jujeña fue *S. scabiei*. Dichos hallazgos fueron confirmados por secuenciación de un segmento de ADN específico de esta especie. Este hallazgo constituye la primera confirmación de sarna sarcóptica en vicuñas empleando varias técnicas diagnósticas en simultáneo. Es necesario continuar investigando el rol que cumplen las especies domésticas y silvestres en la epidemiología de la enfermedad, así como los factores de riesgo asociados a ella, para tomar medidas de control tendientes a mitigar el efecto de la sarna sobre la población de vicuñas (Financiado por INTA, PD I103, PD I038, PE I002 y PE I113).

Bibliografía

- Astorga F. et al. (2018) International meeting on sarcoptic mange in wildlife, June 2018, Blacksburg, Virginia, USA. Parasit Vectors.11: 449.
- Cordero del Campillo M et al. (2002). Parasitología Veterinaria. Ed. McGraw-Hill Interamericana, Madrid.
- Fraser, T.A. et al. (2018). Comparative diagnostics reveals PCR assays on skin scrapings is the most reliable method to detect *Sarcoptes scabiei* infestations. Veterinary parasitology 251, 119–124.
- Jarso D. et al. (2018). Review on Epidemiology of Camel Mange Mites. Biomed J Sci&Tech Res 8(1).
- Pence D.B., Ueckermann E. (2002) Sarcoptic mange in wildlife. Revues scientifique et technique (International Office of Epizootics) 21(2):385-398.



Fig. 1. Lesiones de sarna en miembros anteriores de vicuña



Fig. 2. Morfología de los ácaros hallados en vicuñas (400x)

RESISTENCIA ANTIMICROBIANA

R-I-PERFIL DE SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE CEPAS DE *Campylobacter fetus* DE ORIGEN REPRODUCTIVO

M Galland Pinard ^{1,2}, C Morsella ³, CS Cacciato ^{1,2}, FA Paolicchi ³, P Soto ^{1,4}, MC Catena ¹, J Cantón ¹, C Cagnoli ¹, ML Chiapparrone ¹

1. Laboratorio de Microbiología Clínica y Experimental, Departamento de Sanidad Animal y Medicina Preventiva, Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN), Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNCPBA), Tandil, Buenos Aires, Argentina. 2. Comisión de Investigaciones Científicas (CIC), (CIVETAN-FCV-UNCPBA), Tandil, Buenos Aires, Argentina. 3. Laboratorio de Bacteriología, Área de Producción Animal, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Balcarce, Buenos Aires, Argentina. 4. Laboratorio Biológico de Tandil S.R.L. (BIOTANDIL®) Tandil, Buenos Aires, Argentina. mlchiapp@vet.unicen.edu.ar

Introducción. *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis* y *Campylobacter fetus* subsp. *fetus* son los agentes causales de la campylobacteriosis genital bovina (CGB), una de las enfermedades reproductivas más frecuentes de los rodeos bovinos de Argentina y el mundo. En la hembra, la enfermedad se caracteriza por producir subfertilidad, muerte embrionaria con incremento en el número de servicios necesarios para obtener un ternero, alargamiento del ciclo estral y abortos esporádicos desde el quinto mes de gestación. El toro se comporta como portador y diseminador de la enfermedad sin manifestación de signos clínicos. La información disponible en relación a la sensibilidad antimicrobiana de *C. fetus* es escasa debido probablemente a la baja frecuencia con que se realiza el aislamiento del agente causal y el tratamiento de la enfermedad en bovinos. En toros el tratamiento se realiza cuando el valor genético y/o económico del reproductor así lo justifica. Se han descrito cepas de *C. fetus* sensibles a eritromicina, ampicilina y cefalosporinas de tercera generación. La sensibilidad al ácido nalidíxico y a la cefalotina permiten diferenciar las especies bacterianas de importancia en Medicina Veterinaria: *C. fetus* es resistente al ácido nalidíxico y sensible a la cefalotina, *C. jejuni* y *C. coli* son sensibles al ácido nalidíxico y resistentes a la cefalotina. Vargas *et al.* (2005) estudiaron la sensibilidad antimicrobiana *in vitro* de 21 aislamientos de *C. fetus* subsp. *venerealis* (Vargas *et al.*, 2003), una cepa de referencia de cada subespecie. Los agentes antimicrobianos considerados fueron los comúnmente utilizados para el tratamiento clínico de toros. *C. fetus* subsp. *venerealis* fue sensible a todos los antimicrobianos testeados, excepto al ácido nalidíxico. *C. fetus* subsp. *fetus* demostró resistencia a lincomicina, penicilina y ácido nalidíxico. El objetivo de este estudio fue evaluar los perfiles de sensibilidad antimicrobiana de 20 cepas de *C. fetus* aisladas del tracto reproductor y de abortos de rodeos bovinos de la provincia de Buenos Aires entre 2000 y 2014.

Materiales y métodos. Las 20 cepas se seleccionaron de los ceparios pertenecientes a los laboratorios de Bacteriología (EEA-INTA Balcarce), de Microbiología Clínica y Experimental (FCV-UNCPBA) y BIOTANDIL®. Los aislamientos de *C. fetus* se obtuvieron a partir de muestras de esmegma prepucial, mucus cérvico vaginal y abortos, remitidas para el diagnóstico de fallas reproductivas en bovinos. La selección de las cepas se realizó de acuerdo a la subespecie bacteriana, 13 *C. fetus* subsp. *venerealis* y 7 *C. fetus* subsp. *fetus*, y las muestras clínicas de origen. Se priorizó el análisis de las cepas aisladas a partir de muestras de toro debido a la importancia como transmisor de la enfermedad y en segundo lugar se eligieron al azar las cepas aisladas de hembras y fetos. Las cepas criopreservadas fueron descongeladas a 37 °C, sembradas en placas con medio Skirrow y cultivadas en microaerofilia (5% de O₂, 10% CO₂ y saturación con N₂) por 72 h a 37 °C. La sensibilidad antimicrobiana se evaluó mediante el método de difusión en placa de acuerdo a lo descrito por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2017) y el European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST, 2020) para *C. jejuni* y *C. coli*, con las modificaciones requeridas para *C. fetus*. Los antimicrobianos evaluados fueron: penicilina, ampicilina, amikacina, estreptomina, gentamicina, cefalotina, florfenicol, ciprofloxacina, eritromicina, tilmicosina, ácido nalidíxico y oxitetraciclina.

Resultados. Las cepas de ambas subespecies fueron resistentes al ácido nalidíxico y sensibles al resto de los antimicrobianos evaluados. Una única cepa 04/554 demostró ser menos sensible a la acción de los antibióticos evaluados. Los halos fueron notoriamente menores para penicilina y cefalotina.

Discusión y conclusiones. Los resultados concuerdan con la bibliografía de referencia disponible. La resistencia al ácido nalidíxico coincide con lo descrito para la especie *C. fetus*. Con respecto a los resultados obtenidos por subespecie, los mismos coinciden con lo descrito por Vargas *et al.* (2005) para *C. fetus* subsp. *venerealis* pero no para *C. fetus* subsp. *fetus*. En este caso, las cepas de *C. fetus* subsp. *fetus* fueron sensibles a la penicilina. El perfil de resistencia antimicrobiana de la cepa 04/554, probablemente podría deberse a los resultados obtenidos por Chiapparrone (2018), en los que esta cepa resultó ser una de las más patógenas. Si bien los resultados obtenidos por el método de difusión en placa demuestran que las cepas de *C. fetus* de origen bovino serían sensibles a los antimicrobianos utilizados de rutina en la Clínica Veterinaria, los mismos no son concluyentes ya que necesariamente debe definirse la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) para cada uno de ellos. En forma complementaria y si bien los resultados nos permitirían inferir que el tratamiento de los animales infectados sería exitoso, deben realizarse ensayos *in vivo* para evaluar la respuesta al tratamiento. La sensibilidad antimicrobiana *in vitro* no necesariamente se traduce en éxito terapéutico ya que éste depende de factores como la dosificación, el intervalo entre dosis, la vía de administración, las características del antimicrobiano, la respuesta inmunitaria del animal en el caso de los antimicrobianos bacteriostáticos, entre otros. Cabe destacar que la importancia de este estudio radica en los escasos antecedentes en el tema para cepas de *C. fetus* de la región, el país y el mundo.

Bibliografía

- Chiapparrone, M.L. (2018) Caracterización fenotípica y genotípica de cepas de *Campylobacter fetus* aisladas de rodeos bovinos. Tesis de Doctorado en Ciencia Animal, Facultad Ciencias Veterinarias, UNCPBA. URL: <https://www.ridaa.unicen.edu.ar/xmlui/handle/123456789/186>

7. - Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria Isolated From Animals (2017). 1st Ed. CLSI supplement VET06. Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087, USA, 2017. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). 2020. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters Version 10.0. Disponible en: <https://eucast.org/>. [Consultado 13/03/2020]. Vargas, A.C., Costa, M.M., Vainstein, M.H., Kreutz, L.C., Neves, J.P., 2003. Phenotypic and molecular characterization of bovine *Campylobacter fetus* strains isolated in Brazil. Vet. Microbiol. 93, 121–132. [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(03\)00018-X](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(03)00018-X). Vargas, A.C., - Costa, M.M., Groff, A.C.M., Viana, L.R., Krewer, C.C., Spricigo, D.A., Kirinus, J.K. (2005). Susceptibilidade antimicrobiana de *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis* isolado de bovinos. Pesqui. Veterinária Bras. 25. <https://doi.org/10.1590/s0100-736x2005000100001>.

VIROLOGÍA

V-I-EXANTEMA COITAL EQUINO: EL DIAGNÓSTICO POR PCR EN TIEMPO REAL COMO PARTE DEL CONTROL DE UN BROTE OCURRIDO EN YEGUAS SANGRE PURA DE CARRERA

M. A. Vissani ^{1,2,3 *}; A. Ventimiglia ⁴, J. C. Alonso ⁴, C. Olguin-Perglione ¹; F. Alamos ¹; M. Barrandeguy ^{1,3}.

¹⁻ Instituto de Virología CICVyA, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Dr. Nicolás Repetto y De Los Reseros s/nº, Hurlingham B1686LQF, Buenos Aires, Argentina

²⁻ Cátedra de Enfermedades Infecciosas, Escuela de Veterinaria, Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias, Universidad del Salvador, Champagnat 1599, Ruta Panamericana km 54.5 (B1630AHU), Pilar, Buenos Aires, Argentina;

³⁻ Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Godoy Cruz 2290, Buenos Aires, Argentina;

⁴⁻ Veterinaria Privado, San Antonio de Areco, Buenos Aires, Argentina;

vissani.aldana@inta.gob.ar

Introducción. El exantema coital equino (ECE), causado por la infección con el *alfaherpesvirus equino 3* (EHV-3), es una enfermedad venérea, altamente contagiosa y caracterizada por la formación de pápulas, vesículas, pústulas y úlceras en los genitales externos de yeguas y padrillos. La infección no resulta en enfermedad sistémica, ni produce infertilidad y/o aborto. El impacto negativo radica en la necesidad de interrumpir temporalmente la actividad reproductiva en padrillos y yeguas afectados sumado al riesgo de diseminación iatrogénica de EHV-3 y la ocurrencia de brotes de ECE durante la temporada reproductiva, lo que se ve reflejado en retrasos de las fechas de parto, disminuciones significativas del número de yeguas servidas y en las tasas de preñez en las yeguas afectadas, al reducirse las oportunidades de servicio.¹ El objetivo de este trabajo es presentar los resultados de la implementación del diagnóstico por PCR en tiempo real como parte del control de un brote de ECE ocurrido en un Haras de Sangre Pura de Carrera (SPC) durante la temporada reproductiva 2020.

Materiales y métodos. Durante el período de agosto a octubre 2020, tuvo lugar un brote de ECE en un establecimiento de cría de caballos SPC de la provincia de Buenos Aires. El establecimiento, que contaba con 4 padrillos (uno de ellos de doble temporada proveniente de Francia) y 400 yeguas para servicio (100 propias y 300 de otros productores), comunicó a nuestro laboratorio el 18 de agosto de 2020, que el 80-90% de las yeguas propias presentaban lesiones compatibles con ECE. Los primeros casos se habían observado una semana antes, en yeguas suturadas post-parto. Las lesiones eran en su mayoría de severidad leve a moderada, presentándose en algunos casos "rajaduras" en el esfínter anal. A partir de la confirmación, por PCR en tiempo real, del diagnóstico clínico, se incrementaron las medidas de higiene y bioseguridad, y se recomendó la detección de EHV-3 en todas las yeguas que presentaban lesiones clínicas compatibles con ECE detectadas durante la inspección pre-servicio. Se recibieron 76 hisopados perineales-vaginales (HPV) de yeguas con lesiones compatibles con ECE y una única muestra de hisopado de pene y prepucio (HPP) de los padrillos del haras (n:4) que no presentaban lesiones. Sobre las muestras de HPV y HPP se realizó la extracción de ácidos nucleicos mediante equipo comercial (QIAamp Viral RNA Mini Kit®, QIAGEN) y seguidamente se detectó y cuantificó el ADN viral mediante PCR en tiempo real (qPCR). Brevemente, se utilizó una mezcla

comercial para qPCR (TaqMan Universal Master Mix, Applied Biosystems®) utilizando cebadores y sondas específicos para la detección y cuantificación de un fragmento del gen gG de EHV-3.^{2,3}

Resultados. Se detectó genoma de EHV-3 en el 37% (28/76) de los HPV de yeguas con lesiones compatibles con ECE. De acuerdo a la cuantificación realizada, el 57% (16/28) de las yeguas presentaban una carga viral alta, mientras que el 43% restante (12/28) presentaban carga viral baja. De las yeguas cuyos HPV resultaron positivos con baja carga, se solicitó nueva muestra a las 48-72 h, resultando negativas 10/12 (83%). Al analizar el número de yeguas que resultaron EHV-3 positivas en relación a las yeguas a ser servidas por cada mes de la temporada, los porcentajes fueron: agosto 17%, septiembre 1%, octubre 4% y noviembre 3%. Ninguno de los 4 padrillos del haras mostró lesiones clínicas durante la temporada, así como tampoco resultaron positivos a la detección de genoma de EHV-3 en un único HPP realizado.

Conclusiones. Los procedimientos realizados durante el post parto (palpación rectal y sutura), así como también durante las inspecciones clínicas pre-servicio de las yeguas (tacto rectal y ecografía) pudieron haber favorecido la introducción de la infección, reactivación de la latencia de EHV-3 y la consecuente diseminación iatrogénica. Las correcciones en el manejo y en las medidas de bioseguridad, sumado a la implementación del diagnóstico por qPCR durante la inspección pre-servicio, resultaron críticos para minimizar la extensión del brote y evitar la infección de los padrillos.

Bibliografía

- Barrandeguy, M. & Thiry, E. (2012) Equine coital exanthema and its potential economic implications for the equine industry. *Vet. J.* **191**:35–40.
- Barrandeguy, M. *et al.* (2008) Experimental reactivation of equine herpesvirus-3 following corticosteroid treatment. *Equine Vet. J.* **40**:593–595.
- Vissani, M.A. (2017) Alternativas para la prevención y el tratamiento del exantema coital equino (Buenos Aires University).

V-II-CARACTERIZACIÓN GÉNICA DE G-TIPOS DE CEPAS DE ROTAVIRUS EQUINOS DETECTADAS EN ARGENTINA ENTRE 2016-2020

M.A. Vissani ^{1,2,3*}, M. Carossino ^{2,4}, A. Breitschneider ¹, V. Parreño ^{1,3}, M. Barrandeguy ^{1,2}.

¹⁻ Instituto de Virología CICVyA, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Dr. Nicolás Repetto y De Los Reseros s/nº, Hurlingham B1686LQF, Buenos Aires, Argentina

²⁻ Cátedra de Enfermedades Infecciosas, Escuela de Veterinaria, Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias, Universidad del Salvador, Champagnat 1599, Ruta Panamericana km 54.5 (B1630AHU), Pilar, Buenos Aires, Argentina;

³⁻ Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Godoy Cruz 2290, Buenos Aires, Argentina;

⁴⁻ Louisiana Animal Disease Diagnostic Laboratory and Department of Pathobiological Sciences, School of Veterinary Medicine, Louisiana State University, Baton Rouge, Louisiana, USA.
vissani.aldana@inta.gob.ar

Introducción. La diarrea es uno de los problemas sanitarios más importantes en establecimientos de cría de caballos deportivos y el principal agente causal es Rotavirus equino grupo A (ERVA). Las cepas de ERVA se clasifican en G- y P-tipos en base a las proteínas externas de la cápside viral, VP7 y VP4, respectivamente, siendo G3P[12] y G14P[12] las cepas predominantes en el mundo.^{1,2} Los brotes de diarrea que se producen anualmente en cada temporada, causan pérdidas económicas significativas asociadas a los costos de tratamiento, compromiso de la futura “performance” competitiva y riesgo de muerte de los animales. De acuerdo a los antecedentes en nuestro país, el genotipo prevalente en Argentina fue G3P[12] desde 1992 hasta el año 2000, año en el que se detectó por primera vez el genotipo G14P[12], cuya incidencia fue aumentando, sobre todo desde los años 2006-2007. Entre 2008 y 2014, la detección de ambos genotipos se presentó con un patrón cíclico con alternancias anuales.^{3,4} Si bien, como parte del protocolo preventivo se realiza la vacunación de las yeguas gestantes (la vacuna contiene, entre otros, ERVA G3P[12] pero no G14P[12]), los brotes de diarrea por ERVA en potrillos continúan siendo un problema serio en los establecimientos de cría de equinos. El objetivo de este trabajo es presentar los resultados de la caracterización génica de G-tipos de cepas de ERVA detectadas en Argentina entre 2016-2020.

Materiales y métodos. Se recibieron en el Laboratorio de Virus Equinos 179 muestras de material fecal, correspondientes a 42 brotes de diarrea en potrillos ocurridos entre las temporadas de nacimientos 2016-2020. Las muestras fueron inicialmente analizadas para la detección de ERVA por las técnicas de ELISA (ROTADIAL®, INCUINTA) e inmunocromatografía de flujo lateral (FASTest® ROTA Strip, MEGACOR). Sobre aquellas muestras que resultaron positivas se realizó la extracción de ARN viral mediante equipo comercial (QIAamp Viral RNA Mini Kit®, QIAGEN) y la caracterización génica de G-tipos mediante PCR “multiplex” en tiempo real descrita previamente por Carossino et al., (2018).

Resultados. Se detectó ERVA en el 23% (41/179) de las muestras analizadas correspondientes al 33% (14/42) de los brotes de diarrea. De las muestras que resultaron positivas a ERVA, se detectó el genotipo G14 en el 76% (31/41) mientras que en el 24% (10/41) restante se detectó G3 (Figura 1). Analizando las frecuencias anuales obtenidas, se observa una mayor incidencia de G14 entre los años 2016-2018, mientras que en 2019 se detectó G14 en el 100% de las cepas de ERVA y durante 2020 el genotipo predominante fue G3 (Figura 1).

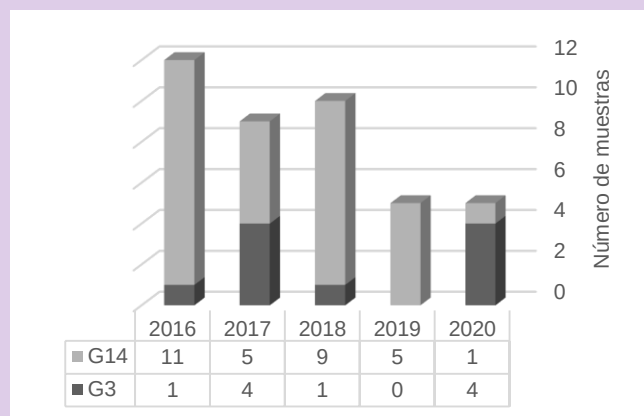


Figura 1: Frecuencia de detección de G-tipos de ERVA de casos de potrillos con diarrea en Argentina en el período 2016-2020.

Conclusiones. Los resultados obtenidos permiten concluir que la tasa de detección de ERVA en los últimos 4 años (23%) fue similar a la descrita en períodos anteriores con una alternancia en la predominancia de los G-tipos circulantes, también observada en períodos previos. Existe aún un porcentaje elevado de brotes de diarreas en potrillos (67%) en los que ERVA no ha sido detectado; esta situación es un interrogante a resolver.

Bibliografía

- Nemoto, M. & Matsumura, T. (2021) Equine rotavirus infection. *J. Equine Sci.* 32:1–9 .
- Bailey, K., Gilkerson, J. & Browning, G. (2013) Equine rotavirus: Current understanding and continuing challenges. *Vet. Microbiol.* 167:135–144.
- Miño, S., Adúriz, M., Barrandeguy, M. & Parreño, V. (2017) Molecular Characterization of Equine Rotavirus Group A Detected in Argentinean Foals During 2009–2014. *J. Equine Vet. Sci.* 59:64–70.
- Garaicoechea, L. et al. (2011) Molecular characterization of equine rotaviruses circulating in Argentinean foals during a 17-year surveillance period (1992–2008). *Vet. Microbiol.* 148:150–160.
- Carossino, M. et al. (2018) Detection, molecular characterization and phylogenetic analysis of G3P[12] and G14P[12] equine rotavirus strains co-circulating in central Kentucky. *Virus Res.* 255:39–54.

V-III-DETECCIÓN DE VIRUS EN APIARIOS UBICADOS EN REGIONES DE CLIMA FRÍO DENTRO DE LA PROVINCIA DE NEUQUÉN, ARGENTINA

Gonzalez, FN¹; Bravo, M²; Ferrufino, C¹; Grossich, R¹; Garcia, NE²; Dus Santos, MJ¹.

(1) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Instituto de Virología e Innovaciones Tecnológicas IVIT INTA-CONICET; (2) Centro PyME Adeneu. Autor responsable: dussantos.maria@inta.gob.ar

Introducción. Entre los patógenos que afectan a las abejas, los virus junto con el ectoparásito *Varroa destructor* cumplen un rol importante frente a la pérdida de colmenas. Resultados previos en eco-regiones de clima templado y subtropical de Argentina, mostraron la presencia de: Virus de las alas deformadas (DWV), Virus de la parálisis aguda (ABPV), Virus de las celdas reales negras (BQCV), Virus de la parálisis crónica (CBPV) y Virus de la cría ensacada (SBV)^{1, 2, 3}. Sin embargo, poco se sabe sobre la presencia de virus en regiones de clima frío. El objetivo de este trabajo fue evaluar la presencia de virus que afectan a la abeja melífera en eco-regiones de clima frío de Argentina.

Materiales y métodos. Se realizó un muestreo en la provincia de Neuquén durante el mes de noviembre del 2019, en el cual se tomaron muestras en 4 apiarios de la localidad de Aluminé, 3 de San Martín de los Andes y 1 de Quilla. Se analizaron 6 colmenas por apiario y de cada una se procesó un grupo de 30 abejas nodrizas. Para la extracción del ARN viral se utilizó un kit comercial, siguiendo las instrucciones del fabricante.

La detección del genoma viral se realizó mediante una RT-qPCR utilizando cebadores específicos previamente descritos por Locke et al 2012⁴ y Bradford et al. 2017⁵, que permitieron la detección del DWV, CBPV, ABPV, SBV, KBV, IAPV y BQCV. Asimismo, en cada colmena se determinó el porcentaje de *varroa* forética (método del frasco).

Resultados. Se observó un 61% de muestras positivas para BQCV, 5,5% para DWV, CBPV y SBV, y 2% para ABPV. No se detectó la presencia de IAPV y KBV y tampoco del ácaro *varroa*. En el 87,5% de los apiarios muestreados se determinó la presencia de al menos uno de los virus. En el 5,5% de las muestras se detectó coinfección entre dos virus (BQCV y DWV o SBV o CBPV) y el 2% presentó coinfección con tres virus (DWV, ABPV y BQCV). A partir de muestras de los apiarios en los que se detectó BQCV, se amplificó y secuenció un fragmento de 700 pb correspondiente a la poliproteína de la cápside viral. Las secuencias obtenidas se utilizaron para realizar análisis filogenéticos.

Discusión y conclusiones. Este es el primer monitoreo de agentes virales realizado en colmenas de clima frío. Estos datos son relevantes para conocer la circulación viral en las diferentes regiones del país y así poder implementar metodologías de control.

Bibliografía

- Giacobino, A., Molineri, A.I., Pacini, A., Fondevila, N., Pietronave, H., Rodríguez, G., Palacio, A., Bulacio Cagnolo, N., Orellano, E., Salto, C.E., Signorini, M.L., Merke, J. (2016) *Varroa destructor* and viruses association in honey bee colonies under different climatic conditions. *Environ Microbiol Rep.* Jun;8(3):407-12. doi: 10.1111/1758-2229.12410.
- Molineri, A.I., Pacini, A., Giacobino, A., Bulacio-Cagnolo, N., Aignasse, A., Zago, L., Fondevila, N., Ferrufino, C., Merke, J., Orellano, E., Bertozzi, E., Pietronave, H., Signorini, M.L. (2017) Prevalence of honey bee (*Apis mellifera*) viruses in temperate and subtropical regions from Argentina. *Rev Argent Microbiol.* Apr-Jun; 49(2):166-173. doi: 10.1016/j.ram.2016.12.004.
- Molineri, A., Giacobino, A., Pacini, A., Bulacio Cagnolo, N., Fondevila, N., Ferrufino, C., Merke, J., Orellano, E., Bertozzi, E. (2017) Masciángelo G, Pietronave H, Signorini M. Risk factors for the presence of Deformed wing virus and Acute bee paralysis virus under temperate and subtropical climate in Argentinian bee colonies. *Prev Vet Med.* May 1;140:106-115. doi: 10.1016/j.prevetmed.2017.02.019.
- Locke, B., Forsgren, E., Fries, I. & de Miranda, J.R. (2012). Acaricide treatment affects viral dynamics in *Varroa destructor*-infested honey bee colonies via both host physiology and mite control. *Appl Environ Microbiol*, 78:227-35.
- Bradford, E.L., Christie, C.R., Campbell, E.M., Bowman, A.S. (2017) A real-time PCR method for quantification of the total and major variant strains of the deformed wing virus. *PloS one* 12, e0190017.

Tabla 1: Detección de virus por apiario

Apiario	BQCV	DWV	CBPV	SBV	ABPV	KBV	IAPV
1	POS	POS	POS	ND	ND	ND	ND
2	POS	ND	POS	POS	ND	ND	ND
3	POS	POS	ND	ND	ND	ND	ND
4	POS	POS	ND	POS	POS	ND	ND
5	POS	ND	ND	ND	ND	ND	ND
6	POS	ND	ND	POS	ND	ND	ND
7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
8	POS	ND	ND	ND	ND	ND	ND

V-IV-DETECCIÓN DEL VIRUS DE INFLUENZA EQUINA UTILIZANDO CRISPR-Cas12: RESULTADOS PRELIMINARES

C. Olguin Perglione¹, M. Barrandeguy^{1,2}.

¹ Instituto de Virología CICVyA, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Dr. Nicolás Repetto y De Los Reseros s/nº, Hurlingham B1686LQF, Buenos Aires, Argentina

² Cátedra de Enfermedades Infecciosas, Escuela de Veterinaria, Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias, Universidad del Salvador, Champagnat 1599, Ruta Panamericana km 54.5 (B1630AHU), Pilar, Buenos Aires, Argentina;
olguin.cecilia@inta.gob.ar

Introducción. El sistema CRISPR-Cas (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats), es el sistema immune encontrado naturalmente en bacterias y archaea, cuya función es la defensa de las infecciones virales por fagos y otros ácidos nucleicos extraños. Está compuesto por una secuencia repetitiva corta palindrómica de ADN (CRISPR), una proteína endonucleasa asociada (Cas) y una molécula de ARN guía, que reconoce específicamente a la secuencia de ADN que será clivada. El sistema CRISPR-Cas, tomo gran importancia en biotecnología a partir de su utilización para edición génica, y posteriormente, para regulación génica, ingeniería epigenética, *screening* genético, entre otros. La familia de enzimas Cas12a, posee la capacidad de cortar moléculas de ADN específicamente dirigida por el ARN guía, y posteriormente corta ADN inespecíficamente, denominado actividad colateral. Esta actividad colateral puede ser evidenciada utilizando moléculas de ADN marcadas con fluoróforos, posibilitando la utilización de este sistema como herramienta de detección molecular de diferentes patógenos, entre ellos virales, con la ventaja de ser un sistema rápido, de alta sensibilidad, especificidad y bajo costo. El objetivo del presente trabajo es evaluar la utilización del sistema CRISPR-Cas12 para la detección del Virus de Influenza equina H3N8.

Materiales y métodos

Diseño de guías. Se diseñaron 4 guías de ARN de entre 20 y 24 nucleótidos de largo, complementarias a 4 regiones distintas del gen de la Matriz (Gen M) del virus de Influenza equina (EIV) H3N8, utilizando el programa CRISPRscan.

Amplificación. Se amplificó el gen completo de la Matriz (1027 nt) de una cepa representativa del EIV H3N8 Florida clado 1 (FC1) y una cepa representativa del EIV H3N8 Florida clado 2 (FC2), ambos linajes del EIV H3N8 actualmente circulantes a nivel mundial. La amplificación se realizó mediante OneStep RT-PCR utilizando *primers* específicos previamente descriptos por Rash et al. 2014.

Detección. La detección por CRISPR-Cas12 se realizó incubando los productos de PCR amplificados junto con el complejo formado por la enzima endonucleasa Cas12a, ADN marcado con un fluoróforo y cada una de las guías de ARN

diseñadas, a 37 °C durante 60 minutos. La fluorescencia emitida fue medida cada 5 minutos (ssDNA FQ substrate lex = 485 nm; λ_{em} = 535 nm).

Resultados. Se consideró como una reacción positiva o detección a aquella que al exponerla a la luz UV emitió fluorescencia. El EIV H3N8 FC1 fue detectado con las 4 sondas diseñadas, mientras que únicamente 2 de las 4 sondas de ARN detectaron el EIV H3N8 correspondiente al FC2. Todas las detecciones ocurrieron entre los 5 y 20 minutos de incubación.

Discusión. Los resultados obtenidos demuestran que la tecnología CRISPR-Cas12, podría ser utilizada para la detección del EIV H3N8. Futuros trabajos para reemplazar la amplificación por OneStep RT-PCR por una amplificación isotérmica, y establecer el límite de detección de esta técnica son necesarios para poder ampliar la utilización de este sistema como alternativa de diagnóstico molecular en laboratorios con equipamientos básicos.

Bibliografía

- Li, Y., Li, S., Wang, J. and Liu, G. (2019) CRISPR/Cas Systems towards Next-Generation Biosensing. *Trends in biotechnology* 37:730-743.
- Zuo, X., Fan, C. and Chen, H. (2017) A CRISPR-associated nuclease that can promiscuously cleave RNAs enables a rapid and cheap test for the single-molecule detection and single-base discrimination of nucleic acids. *Nature Biomedical Engineering* 1.
- Chen, J.S., Ma, E., Harrington, L.B., Da Costa, M., Tian, X., Palefsky, J.M. and Doudna, J.A. (2018) CRISPR-Cas12a target binding unleashes indiscriminate single-stranded DNase activity. *Science* 360:436-439.

V-V-ABORTOS POR ALFAHERPESVIRUS EQUINO 1 EN ARGENTINA: CARACTERIZACIÓN EN VARIANTES NEUROPATOGÉNICAS Y NO NEUROPATOGÉNICAS

C. Olguin Perglione¹, F. Alamos¹, M. Barrandeguy^{1,2}, M.A. Vissani^{1,2,3}

⁵ Instituto de Virología CICVyA, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Dr. Nicolás Repetto y De Los Reseros s/nº, Hurlingham B1686LQF, Buenos Aires, Argentina;

⁶ Cátedra de Enfermedades Infecciosas, Escuela de Veterinaria, Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias, Universidad del Salvador, Champagnat 1599, Ruta Panamericana km 54.5 (B1630AHU), Pilar, Buenos Aires, Argentina;

⁷ Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Godoy Cruz 2290, Buenos Aires, Argentina.
olguin.cecilia@inta.gob.ar

Introducción. El alfa herpesvirus equino 1 (EHV-1), es un patógeno altamente distribuido en las poblaciones equinas a nivel mundial, y se caracteriza por producir enfermedad respiratoria leve, abortos, mortalidad perinatal y mieloencefalopatía. Su importancia dentro de la industria hípica radica en las pérdidas económicas que produce por sus efectos clínicos directos. Un polimorfismo entre las cepas de EHV-1 que ocurre en el gen que codifica para la ADN polimerasa (ORF30), producido por la mutación puntual de adenina (A) por guanina (G) en la posición 2254 (A2254G), que genera un cambio de aminoácidos de ácido aspártico (N) a asparagina (D) (N752D), permite distinguir cepas altamente asociadas a neurovirulencia (variantes no neuropatogénicas y neuropatogénicas, respectivamente). Recientemente, una nueva variante de EHV-1 ha sido identificada (ORF30 C2254, H752), durante un importante brote ocurrido en Francia en el año 2018, sin encontrarse asociación entre esta variante y la enfermedad neurológica. Estudios previos relacionados con la circulación de este virus en la Argentina, demostraron que entre los años 1993 y 2008, el 93% de las cepas aisladas a partir de fetos abortados fueron caracterizadas como genotipo A2254 no neuropatogénico, mientras que el 7% restante fueron G2254 neuropatogénico. El objetivo del presente trabajo fue caracterizar las cepas de EHV-1 aisladas a partir de fetos abortados en la Argentina, durante el período comprendido entre los años 2008 y 2020.

Materiales y métodos. Durante el período comprendido entre julio del año 2008 y diciembre del año 2020, se recibieron en el Laboratorio de Virus Equinos, del Instituto de Virología, INTA, un total de 971 muestras de tejidos de fetos abortados. El diagnóstico de EHV-1 se realizó por aislamiento viral en cultivo de células y PCR. Las muestras que resultaron positivas, fueron analizadas por PCR en tiempo real, para la discriminación del polimorfismo A2254 y G2254 del EHV-1.

Resultados. Se aisló y detectó EHV-1 en el 4,73% de las muestras de fetos abortados analizadas (46/971). La caracterización de las cepas detectadas demostró que el 95,6% (44/46) pertenecían a la variante no neuropatogénica (A2254), mientras que el 2,2% (1/46) a la neuropatogénica (G2254). Sólo una de las cepas analizadas de EHV-1 no se pudo caracterizar por la PCR en tiempo real. La única cepa caracterizada como G2254, correspondió a un caso de aborto esporádico, no asociado a enfermedad neurológica. Por otro lado, durante un brote de abortos por EHV-1 en el que previamente se había observado enfermedad neurológica, la cepa aislada de los abortos resultó A2254 (no neuropatogénica).

Conclusiones. Los resultados obtenidos en este trabajo demuestran que en la Argentina existe circulación de ambos genotipos, no neuropatogénico (A2254) y neuropatogénico (G2254), en proporciones similares a las observadas y descritas en años anteriores. Asimismo, se observa que si bien existe una alta asociación entre el cuadro clínico (abortos) y la variante detectada (A2254), esto no siempre sucede, hecho ya descrito por otros autores. Con respecto a la cepa de HVE-1 que no pudo ser caracterizada, podría tratarse del genotipo recientemente descrito en Francia (H752), esto será estudiado a la brevedad.

La constante vigilancia, detección y caracterización de las cepas de este virus circulantes aportan información que contribuye al conocimiento de variables que podrían influir en la dinámica epidemiológica de esta infección en nuestro país.

Bibliografía

- Sutton, G., Thieulent, C., Fortier, C., Hue, E.S., Marcillaud-Pitel, C., Pléau, A., Deslis, A., Guitton, E., Paillot, R. and Pronost, S. (2020). Identification of a New Equid Herpesvirus 1 DNA Polymerase (ORF30) Genotype with the Isolation of a C2254/H752 Strain in French Horses Showing No Major Impact on the Strain Behaviour. *Viruses* 2020, 12:1160; doi:10.3390/v12101160.
- Vissani, M.A., Becerra, M.L., Olguin Perglione, C., Tordoya, M.S., Miño, S., Barrandeguy, M. (2009). Neuropathogenic and non-neuropathogenic genotypes of Equid Herpesvirus type 1 in Argentina. *Veterinary Microbiology* 139:361–364.
- Lawrence, G.L., Gilkerson, J., Loveb, D.N., M. Sabine, M., and Whalley, J.M. (1994). Rapid, single-step differentiation of equid herpesviruses 1 and 4 from clinical material using the polymerase chain reaction and virus-specific primers. *Journal of Virological Methods* 47:59-72.
- Smith, K.L., Li, Y., Breheny, P., Cook, R.F., Henney, P.J., Sells, S., Pronost, S., Lu, Z., Crossley, B.M., Timoney, P.J. and Balasuriya, U. (2012) New Real-Time PCR Assay Using Allelic Discrimination for Detection and Differentiation of Equine Herpesvirus-1 Strains with A2254 and G2254 Polymorphisms, *Journal of Clinical Microbiology*, 50,6:1981–1988.

V-VI-SITUACIÓN DE ARTERITIS VIRAL EQUINA EN LA ARGENTINA EN EL PERÍODO COMPRENDIDO ENTRE LOS AÑOS 2012–2021

C. Olguin-Perglione¹, M. Barrandeguy^{1,2}, M.A. Vissani^{1,2,3}

⁸- Instituto de Virología CICVyA, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Dr. Nicolás Repetto y De Los Reseros s/nº, Hurlingham B1686LQF, Buenos Aires, Argentina

⁹- Cátedra de Enfermedades Infecciosas, Escuela de Veterinaria, Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias, Universidad del Salvador, Champagnat 1599, Ruta Panamericana km 54.5 (B1630AHU), Pilar, Buenos Aires, Argentina;

¹⁰- Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Godoy Cruz 2290, Buenos Aires, Argentina; olguin.cecilia@inta.gob.ar

Introducción. La Arteritis Viral Equina (AVE), producida por el virus de arteritis equina (EAV), es una enfermedad respiratoria y reproductiva que afecta a miembros de la familia *Equidae*. El curso de la infección generalmente es subclínico, y clínicamente se caracteriza por producir enfermedad respiratoria en animales adultos, abortos en yeguas preñadas, y neumonía intersticial y enteritis fulminante en potrillos. En los machos enteros sexualmente maduros la infección respiratoria puede originar el estado de portador ("padrillo carrier"), con diseminación del virus por semen. Estos animales son los reservorios de la infección y constituyen un eslabón muy importante en la perpetuación del virus en la población equina mundial. La transmisión viral ocurre por vía respiratoria durante el período agudo de la infección y venérea ("padrillos carrier"), durante el servicio natural o la inseminación artificial (IA). El impacto económico de esta enfermedad radica en la necesidad de cancelar eventos ecuestres por enfermedad respiratoria, la presentación de abortos, el establecimiento del estado de portador en padrillos y las restricciones a las exportaciones impuestas por algunos países para los animales seropositivos. La AVE es de denuncia obligatoria en nuestro país y es considerada "notificable" para la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE). Durante el primer semestre del año 2010, ocurrió un brote de AVE en Argentina, produciendo abortos, muerte de potrillos jóvenes, infección persistente en padrillos, restricciones en el movimiento de equinos y cancelación temporaria de la exportación, generando grandes pérdidas económicas. En el contexto de este brote, en los años 2010 y 2011, se autorizó la vacunación de padrillos en nuestro país (Res 446 y 520/2010, Res 494/2011). En Argentina, se ha establecido que los padrillos seropositivos a AVE, deben ser evaluados mediante la detección de virus en semen por RT-PCR y por aislamiento viral. Además, desde el año 2014, la detección del EAV por estas dos técnicas es un requisito obligatorio para todas las partidas de semen importadas al país, (Res SENASA 617/05 y 9/571/14). El objetivo de este trabajo es comunicar la situación de AVE en la Argentina luego de la resolución favorable del brote ocurrido en el año 2010.

Materiales y métodos. Durante el período estudiado (enero 2012 a diciembre 2020), se analizaron 714 muestras de abortos, natimortos y muertes perinatales; 375 hisopados nasofaríngeos de animales con enfermedad respiratoria y 421 muestras de semen, correspondientes a padrillos dadores de semen de Argentina y muestras de semen congelado importado. Las muestras fueron analizadas por aislamiento viral en cultivo de células (RK13) y RT-PCR (Nested RT-PCR y RT-PCR en tiempo real). Además, se analizaron por la técnica de virus-neutralización 38492 muestras de suero recibidas en el servicio de diagnóstico. Todos los ensayos fueron realizados de acuerdo con las recomendaciones descriptas en el Manual de las pruebas de diagnóstico y de las vacunas para los animales terrestres de la OIE.

Resultados. En el período analizado, no se detectó el EAV sobre las muestras de abortos, natimortos o muertes perinatales, ni en los hisopados nasofaríngeos de animales con enfermedad respiratoria. Con respecto a las muestras de semen analizadas, se detectó el EAV en una partida de semen congelado importado

durante los controles sanitarios pre-importación, lo que motivó el decomiso de la misma. No se detectó el EAV en las muestras de semen de reproductores vacunados que aun actualmente, luego de más de 10 años post vacunación, siguen resultando seropositivos. En todos los animales que resultaron serológicamente positivos, se estableció evidencia de vacunación, importación o relación con el brote de esta enfermedad en el país en el año 2010.

Discusión. Este trabajo permite mostrar la situación sanitaria de Argentina con respecto AVE, acercando evidencias de que no existe circulación viral en las poblaciones equinas de nuestro país. Esta situación ventajosa debe ser cuidadosamente custodiada mediante el permanente monitoreo como se ha venido haciendo hasta el momento. Además, estos resultados reflejan la importancia de la detección de este virus en las muestras de semen congelado importado, para evitar el re-ingreso de la infección a nuestra población equina, con las consecuentes pérdidas económicas que esto implica.

Bibliografía

- OIE (2016) *Manual of Diagnostic Test and Vaccines for Terrestrial Animals*, 7^{ma} Edición.
- Timoney, P.J. (2007) Infectious diseases and the international movement of horses. In: Sellon, D., Long, M (Eds.), *Equine Infectious Diseases*, Chapter 69. Elsevier, Philadelphia, USA:549-556.
- Holyoak, G.; Balasuriya, U.; Broaddus, C.; Timoney, P. (2008) Equine viral arteritis: current status and prevention. *Theriogenology* 70:403-41.

