



**UBA**  
Universidad de Buenos Aires



Facultad de Ciencias  
**VETERINARIAS**  
Universidad de Buenos Aires

# **VII JORNADAS DE JÓVENES INVESTIGADORES**

**7, 8 y 9 de junio de 2017  
Buenos Aires – ARGENTINA**

 **FundaVet**

## EVALUACIÓN DEL ADN ESPERMÁTICO FELINO MEDIANTE LA TÉCNICA DE DISPERSIÓN DE LA CROMATINA

Allera, C<sup>1</sup>; Comercio, E<sup>1,2</sup>; Gonzales Vera, J<sup>3</sup>; Miragaya, M<sup>1,2</sup>; Carretero MI<sup>1, 2,4</sup>.

- (1) Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA). Buenos Aires, Argentina.
- (2) Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Teriogenología. Buenos Aires, Argentina.
- (3) Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Cirugía. Buenos Aires, Argentina.
- (4) CONICET. Buenos Aires, Argentina.

El objetivo de este estudio fue evaluar el ADN en espermatozoides felinos obtenidos por eyaculación farmacológica (EF) mediante la técnica de dispersión de la cromatina espermática (SCD: Sperm Chromatin Dispersion assay). Se utilizaron 13 gatos machos enteros entre 9 meses y 5 años de edad, clínica y reproductivamente sanos. Se realizó EF bajo sedación y cateterización uretral. Se evaluaron las siguientes características seminales de rutina: movilidad progresiva (MP), concentración (C) y morfología espermática. Para evaluar el grado de fragmentación del ADN se empleó la técnica de SCD y como control de fragmentación del ADN se utilizó la incubación del semen con NaOH 0,3 M durante 5 minutos a temperatura ambiente. Brevemente, las muestras se diluyeron con PBS para obtener una concentración final de 5 a 10 millones de espermatozoides/ml. Una alícuota se mezcló con agarosa de bajo punto de fusión. Luego, 50 µl de la mezcla semen-agarosa se colocaron sobre portaobjetos pre-tratados con agarosa de normal punto de fusión e inmediatamente se cubrieron con cubreobjetos. Se dejaron solidificar a 4° C durante 10 minutos. Los cubreobjetos se retiraron cuidadosamente y los portaobjetos se incubaron con una solución ácida. Posteriormente, se incubaron con una solución de lisis 1 con 2,5% de mercaptoetanol, para remover las proteínas. Se enjuagaron e incubaron en la solución de lisis 2. Finalmente, se deshidrataron en baños secuenciales de alcoholes (70°, 85° y 96°) y se tiñeron con Giemsa. Se contaron un mínimo de 200 espermatozoides por muestra mediante microscopía óptica (1000x). Se realizó estadística descriptiva de las características seminales de rutina y de los porcentajes de ADN intacto y fragmentado. Los valores de las características seminales de rutina fueron: MP:  $84,2 \pm 7,0\%$ , C:  $150,0 \pm 26,7$  espermatozoides/ml y espermatozoides con morfología normal:  $82,8 \pm 6,0\%$ . Se observaron 4 patrones de SCD en espermatozoides de gato: núcleos con halos grandes de dispersión de la cromatina (HG), núcleos con halos medianos (HM), núcleos con halos pequeños (HP) y núcleos sin halos (SH). Los patrones HG y HM son considerados espermatozoides con ADN intacto, mientras que los patrones HP y SH representan espermatozoides con ADN fragmentado. Los porcentajes de cada una de los patrones fueron (media  $\pm$  desvío estándar): HG:  $69,7 \pm 11,3\%$ , HM:  $22,3 \pm 9,0\%$ , HP:  $5,0 \pm 3,6\%$  y SH:  $3,0 \pm 1,6\%$ . En todas las muestras incubadas con NaOH se observó un 100% de espermatozoides SH. Estos resultados muestran que es posible evaluar la fragmentación del ADN en espermatozoides de gato obtenidos por EF mediante la técnica de SCD. Por otra parte, los espermatozoides de gato serían más sensibles a la acción del mercaptoetanol debido a que se utilizaron menores concentraciones a las empleadas en otras especies.

## DETERMINACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS Y ANÁLISIS FARMACOCINÉTICO DE LA CEFALEXINA AL 20% ADMINISTRADA POR VÍA INTRAMUSCULAR A CABRAS EN LACTACIÓN

Alonso, M; Paes Rodriguez, JD; Prados AP; Monfrinotti A; Porta N; Kreil V

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Farmacología, Av Chorroarín 280 (1427) CABA. Argentina. UBACyT 20020130100615BA

La producción de leche de cabra en sistemas de explotación extensivos y semiextensivos ha ganado relevancia como una actividad productiva en los últimos años. Sin embargo, la ocurrencia de enfermedades infecciosas puede disminuir la rentabilidad, siendo necesario implementar esquemas posológicos para esta especie. La cefalexina es un antibiótico betalactámico del grupo de las cefalosporinas de primera generación, activa contra organismos gram positivos y algunos bacilos gram negativos. Se decidió utilizar una presentación de cefalexina al 20% de depósito, ya que estas formulaciones permiten espaciar los intervalos de dosificación, facilitando el cumplimiento del tratamiento, especialmente en explotaciones extensivas. Los objetivos de este trabajo fueron realizar la puesta a punto del método microbiológico para la cefalexina y determinar las concentraciones plasmáticas de cefalexina en plasma caprino, y describir la farmacocinética de la cefalexina al 20 % luego de su administración, vía intramuscular, en cabras lactantes. Se utilizaron seis cabras lactantes sanas de peso promedio  $35,52 \pm 4,50$  kg, en confinamiento durante la experiencia con acceso a agua y comida, y que recibieron una única dosis de 20 mg/kg de una solución de larga duración de cefalexina al 20% (Cefalexina 20%, Laboratorio Ruminant, Buenos Aires, Argentina) por vía intramuscular (i.m.) en el miembro posterior izquierdo. Se tomaron muestras de sangre con heparina de ambas venas yugulares a tiempos preestablecidos. Las muestras fueron centrifugadas y los plasmas fueron congelados a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su procesamiento. Las concentraciones plasmáticas de cefalexina se determinaron mediante el método microbiológico, utilizando *Kocuria rhizophila* ATCC 9341 como microorganismo patrón. La curva fue validada en plasma caprino (linealidad, exactitud y precisión) para concentraciones entre 50 y  $0,39 \mu\text{g/ml}$ . Los resultados fueron analizados utilizando Graph Pad Prism, Excel y un programa de análisis farmacocinético (Topfit). El límite de cuantificación y de detección del método fueron de  $0,78 \mu\text{g/ml}$  y  $0,39 \mu\text{g/ml}$ , respectivamente; la exactitud (desvío) fue menor al 12,44%, la variación interdía (precisión) fue menor al 2,23%, y el coeficiente de correlación de la regresión lineal ( $r^2$ ) fue de 0,994. Los parámetros farmacocinéticos fueron:  $C_{\text{máx}}$ :  $18,44 \pm 4,62$ ;  $T_{\text{max}}$ :  $1,125 \pm 0,31$ ;  $t_{1/2}$ :  $0,92 \pm 0,16$  y  $TMR_{\text{inf}}$ :  $2,12 \pm 0,22$ . El  $T > CIM$  fue de  $5,27 \pm 0,43$  horas. La dosis y la vía de administración utilizadas son las recomendadas por el fabricante para bovinos. Como la cefalexina es un antibiótico tiempo dependiente, la eficacia clínica está relacionada con el mantenimiento de los niveles plasmáticos del antimicrobiano por encima de la concentración inhibitoria mínima (CIM) del microorganismo patógeno por al menos el 40-50 % del intervalo entre dosis. Cuando se utilice cefalexina al 20% larga duración en cabras por vía i.m., a dosis de 20 mg/kg, la misma debería ser repetida cada 12 horas para microorganismos que tengan  $CIM \leq 1$  microgramo/ml, para lograr la eficacia clínica del tratamiento.

## EVALUACIÓN DE LA INGESTA DE ELEMENTOS TRAZA A TRAVÉS DEL CONSUMO DE HÍGADO Y RIÑÓN DE BOVINOS

Alvarez Gonçalvez, CV; Fernandez Cirelli, A; Pérez Carrera, A

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias. Centro de Estudios Transdisciplinarios del Agua (CETA) y Cátedra de Química Orgánica de Biomoléculas, Buenos Aires, Argentina.

Universidad de Buenos Aires – CONICET. Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA), Buenos Aires, Argentina.

La producción de carne de vacuna representa una de las actividades más importantes de la economía mundial. En algunas regiones, el ganado se encuentra expuesto a elementos traza inorgánicos que pueden tener un impacto negativo sobre la salud y la producción; pudiendo acumularse en los tejidos animales y ser transferidos a los alimentos. La Llanura Pampeana, principal región productiva a nivel agropecuario, presenta niveles elevados de arsénico (As) en el agua que alteran significativamente la calidad del recurso, y condicionan su utilización para consumo humano y animal. Por lo general, en esta región, el As está presente habitualmente en forma inorgánica ( $\text{As}^{\text{III}}$  y  $\text{As}^{\text{V}}$ ), junto con otros elementos como molibdeno (Mo), flúor (F) o vanadio (V) entre otros. La presencia de este elemento en el agua de bebida podría implicar un riesgo de transferencia a los tejidos bovinos y a los alimentos derivados, representando un riesgo potencial para la salud humana. Por otro lado, los niveles de arsénico en hígado y riñón pueden ser indicadores de exposición en el ganado, no obstante el conocimiento acerca de la presencia de estos elementos en estos tejidos bovinos es escaso. En este contexto, el objetivo del presente estudio es analizar el riesgo para la salud humana del consumo de dos menudencias bovinas (hígado y riñón), a través del cálculo del CDI (*Chronic Daily Intake*), proporcionando información para la determinación de niveles de exposición y prácticas seguras de producción de alimentos. Se cuantificaron los niveles de As, Mo y V en muestras de hígado ( $n = 63$ ) y riñón bovino ( $n = 37$ ) y se comparó el nivel encontrado de los mismos con los límites recomendados por el Plan CREHA (SENASA) y los valores recomendados por la Organización Mundial de la Salud (OMS). Se calculó la ingesta diaria crónica (CDI) para muestras de la Llanura Pampeana. En hígado los niveles encontrados de As, Mo y V estuvieron entre 24 y 247  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (MS), 1176 y 4937  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (MS) y 25 y 2229  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (MS) respectivamente. En las muestras de riñón los niveles se encontraron entre 58 y 501  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (MS) para el As, entre 1263 y 2674  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (MS) para el Mo y entre 106 y 1480  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (MS) en el caso del V. Todas las muestras de hígado y riñón bovino tienen niveles de arsénico por debajo del nivel máximo recomendado (LMR) por SENASA (LMR  $< 1 \text{ mg} / \text{kg}$ ). No hay niveles recomendados para Mo en esta guía. Respecto a la evaluación del riesgo para la salud humana, los valores de CDI para As en para las muestras de hígado y riñón fueron  $< 0.04 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ ; en el caso del Mo, el CDI fue  $< 0.25 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$  (riñón) y entre 1,16 y 1,30  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$  (hígado). Para el V, los CDI calculados se encontraron por debajo de 0,06  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ . En todos los casos, los niveles de ingesta calculados se corresponden con los reportados previamente para otros alimentos de origen animal.

## **PRESENCIA Y UBICACIÓN DE ESPERMATOZOIDES EN OVIDUCTOS DE ALPACA (*Vicugna pacos*). DIFERENCIAS PRE Y POSTOVULACIÓN EN HEMBRAS INDUCIDAS MEDIANTE SERVICIO NATURAL.**

Angiono, GM<sup>1</sup>; Olea G<sup>2</sup>; Boviez, JD<sup>1</sup>; Apichela, SA<sup>4,5</sup>; Lombardo, DM<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias. Veterinarias, Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA), Argentina; <sup>2</sup> CONICET. UNNE. Facultad de Medicina. Laboratorio de Investigaciones Bioquímicas (LIBIM); <sup>4</sup> INSIBIO CONICET - UNT; <sup>5</sup> UTN. Facultad de Agronomía y Zootecnia. Tucumán, Argentina. e-Mail: gangiono@fvet.uba.ar

Estudios realizados en llama sugieren que en dicha especie se forma un reservorio espermático a nivel de la unión útero tubal (UUT). Trabajos previos mostraron imágenes compatibles con núcleos de espermatozoides intercalados en el epitelio oviductal de la papila, UUT e istmo de alpacas. El objetivo del presente trabajo fue estudiar la presencia y distribución de espermatozoides en el oviducto de alpacas pre y postovulación, inducidas mediante servicio natural. Se dio servicio a 4 hembras de alpaca con folículos ovulatorios (6-10 mm, previo seguimiento ecográfico), utilizando 2 machos de alpaca (Centro Experimental UNA, Puno, Perú). Se realizó la faena y toma de muestras entre 12 a 24 h (preovulatorias, n= 2) y entre 24 a 48 h (postovulatorias, n= 2). Los oviductos se fijaron en formol 10% y se procesaron los segmentos, istmo, UTT y papila para hematoxilina-eosina, DAPI y microscopía electrónica de barrido (MEB). Se utilizó microscopio de campo claro trinocular (Leica DM 4000B) y programas de captura y análisis de imágenes (LASZ y QWin Plus 3.0). Para microscopía de barrido, se utilizó un microscopio JEOL JSM-5800 LV. Se determinó mediante DAPI y MEB, las características y distribución de las imágenes intercaladas en el epitelio. Se evaluó la cantidad de espermatozoides observados por segmento y la ubicación de los mismos, mediante un score de 4 niveles. El análisis estadístico se realizó mediante una prueba de Chi Cuadrado ( $p \leq 0.05$ ). Las imágenes intercaladas se observaron en todos los segmentos, tanto en el epitelio de revestimiento como formando grupos en la entrada de cavéolas. Mediante DAPI se determinó que dichas imágenes corresponden a núcleos y por MEB se observaron imágenes compatibles con núcleos espermáticos observados en la luz oviductal. Al comparar hembras pre y postovulación, se observaron diferencias en la frecuencia de la cantidad de espermatozoides observados por segmento y en la ubicación de los mismos. En alpacas preovulatorias, se observaron mayores frecuencias de espermatozoides en el istmo, papila y UUT, observando espermatozoides en la luz, sobre el epitelio y núcleos intercalados. En postovulatorias no se observaron espermatozoides en la UUT, y en la papila se redujo la frecuencia en las cantidades observadas, reduciéndose la observación de espermatozoides sobre el epitelio. En istmo se observan imágenes con más de 10 células predominando la ubicación en la luz e intercalados. Los hallazgos observados podrían estar relacionados al rol de la papila, la UUT y el istmo en la formación y mantenimiento del reservorio espermático en las alpacas estudiadas en los estadios pre y postovulación.

## IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES VEGETALES CON CAPACIDAD TINTÓREA EN LA SELVA EN GALERÍA DE BUENOS AIRES

Anzuinelli, M<sup>1</sup>; Rocchetti, L<sup>1</sup>; Gambino, S<sup>1</sup>; Gutierrez, G<sup>2</sup>; Herrero, MA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Agronomía, Cátedra de Botánica. <sup>2</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Bases Agrícolas. Buenos Aires, Argentina. milianzuinelli@gmail.com

El uso de plantas para realizar teñidos forma parte de las costumbres locales desde tiempos remotos, constituyendo un pilar importante de la riqueza natural regional y del arraigo de las personas a su cultura. Recientemente, se observa una tendencia a la revalorización de especies vegetales con capacidad tintórea debida entre otros factores a la creciente demanda de productos más “naturales”, la re-introducción de técnicas ancestrales y la valorización de los servicios ecosistémicos asociados a estas actividades. El objetivo de esta primera etapa del proyecto fue explorar un sector de la selva en galería del Partido de Berazategui, para recolectar e identificar la flora existente y así luego seleccionar aquellas con capacidad tintórea. En abril de 2017 se realizó un taller en la Escuela N° 24 de Hudson, partido de Berazategui, con estudiantes de Ciencias Ambientales, docentes de las facultades de Agronomía y Veterinaria de la UBA y 19 alumnos de la escuela en conjunto con sus docentes como parte del proyecto de Voluntariado Universitario (2016-2017) “Herencia Textil y Ecosistemas” para recolectar, identificar y herborizar especies vegetales de la zona en un sector de la margen norte del Arroyo Baldovinos, situado en las cercanías de la escuela. Se recolectaron 14 especies en total, entre las que se hallaron herbáceas, arbustivas, arbóreas y trepadoras que pudieron ser identificadas. Las herbáceas encontradas fueron *Sonchus oleraceus* (cerraja), *Cichorium intybus* (achicoria), *Dipsacus sp.*, *Vicia sativa* (vicia), *Sida rhombifolia* y *Sorghum halepense* (sorgo de Alepo); las arbustivas *Austroeupatorium inulifolium* (chilca de olor), *Ligustrum sinense* (ligustrina); las arbóreas: *Populus alba* (álamo plateado), *Morus nigra* (morera), *Acer negundo* (arce), *Ligustrum lucidum* (ligustro), *Senna spectabilis* (carnavalito) y por último una especie trepadora identificada como *Hedera helix* (hiedra). De las especies mencionadas sólo tres de ellas son nativas de Argentina, *S. rhombifolia*, *S. spectabilis* y *A. inulifolium*. Se hipotetiza que las especies no nativas, serían dispersadas desde la Reserva de Biósfera Parque Pereyra Iraola ubicado 5 kilómetros aguas arriba del arroyo. Además, se ha podido determinar por bibliografía que *H. helix*, *M. nigra* y *A. negundo* tendrían capacidad tintórea. Por otra parte, existen evidencias no científicas que *S. spectabilis*, *P. alba* y *A. inulifolium* podrían tener capacidad tintórea. Se deberán completar estas observaciones realizando una nueva recolección e identificación en primavera para la obtención de nuevo material que corresponda a la flora del sitio analizado, como así también evaluar los posibles tintes obtenidos con las condiciones de suelo y agua de la región.

## DETERMINACIÓN DEL ESTADO OXIDATIVO CITOSÓLICO Y MITOCONDRIAL EN OVOCITOS PORCINOS VITRIFICADOS

Aparicio, F<sup>1</sup>; Pinchetti, D<sup>1</sup>; Cetica, P<sup>1,2</sup>; Morado, S<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA), Cátedra de Química Biológica. Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Universidad de Buenos Aires-CONICET, Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA), Buenos Aires, Argentina. e-mail:[apariciofa@outlook.com](mailto:apariciofa@outlook.com)

La vitrificación de ovocitos porcinos presenta aún resultados inferiores a los observados en otras especies, que podrían relacionarse a cambios en la actividad oxidativa citosólica y/o mitocondrial de los mismos luego del atemperado. El objetivo de este trabajo fue evaluar el estado oxidativo citosólico y mitocondrial de ovocitos porcinos madurados *in vitro* y sometidos al proceso de vitrificación-atemperado. Los complejos ovocito-cumulus se obtuvieron por aspiración de folículos ováricos antrales y fueron madurados en medio 199 con sulfato de gentamicina, fluido folicular porcino, FSH y LH bajo aceite mineral a 39°C y 5% CO<sub>2</sub> en estufa de aire humidificado durante 48 hs. Luego, los ovocitos fueron desnudados y vitrificados por el método de mínimo volumen Cryotech, que utiliza crioprotectores permeables (etilenglicol, dimetilsulfóxido) y componentes osmóticamente activos (trealosa) y como soporte una lámina fina para ingresar directamente al nitrógeno líquido. Para su atemperado se utilizaron soluciones de trealosa en concentraciones decrecientes hasta llegar a soluciones isotónicas. La actividad oxidativa de los ovocitos se determinó por la coloración fluorescente dual de RedoxSensor Red CC-1 y MitoTracker Green FM y por autofluorescencia de las coenzimas NAD(P)H y FAD, cuantificando su fluorescencia por microfotografía digital a las 0, 3 y 21 horas post atemperado. Como grupo control se utilizaron ovocitos porcinos maduros sin vitrificar-atemperar. Para RedoxSensor Red CC-1 en ambos grupos se observó una disminución de la luminosidad en los ovocitos a lo largo del tiempo ( $p < 0,05$ ). Para MitoTracker Green FM en ambos grupos también se produjo un descenso de la luminosidad de los ovocitos en función del tiempo ( $p < 0,05$ ), manteniéndose en todos los tiempos la luminosidad del grupo vitrificado por encima del grupo control ( $p < 0,05$ ). Los niveles de NAD(P)H fueron menores en el grupo vitrificado que en el control en todos los tiempos en estudio ( $p < 0,05$ ), manteniéndose este valor estable dentro de cada grupo a lo largo del tiempo. Los valores de FAD no presentaron diferencias significativas entre los grupos, manteniéndose en ambos casos constante la luminosidad en función del tiempo. Podemos concluir que los ovocitos porcinos madurados *in vitro* que son vitrificados y atemperados experimentan un aumento en su actividad oxidativa durante su atemperado y posterior recuperación.

## MICRONUTRIENTES DE IMPORTANCIA NUTRICIONAL EN LECHE CRUDA DE RUMIANTES

Arellano, FE<sup>1,3</sup>; Calzetta Resio, AN<sup>2,3</sup>; Fernandez Cirelli, A<sup>1,3,4</sup>; Pérez Carrera, A<sup>1,3,4</sup>

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Química Orgánica de Biomoléculas, Buenos Aires, Argentina.

<sup>2</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Protección e Inspección Veterinaria de Alimentos, Buenos Aires, Argentina.

<sup>3</sup>Universidad de Buenos Aires, Centro de Estudios Transdisciplinarios del Agua (CETA), Buenos Aires, Argentina.

<sup>4</sup>Universidad de Buenos Aires – CONICET. Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA), Buenos Aires, Argentina.

La caracterización composicional y la cuantificación de micronutrientes presentes en los productos lácteos es importante para brindar calidad nutricional y garantizar la inocuidad de los alimentos a los consumidores. Entre los elementos de mayor importancia encontramos cobre (Cu), hierro (Fe), manganeso (Mn), molibdeno (Mo), y zinc (Zn). Existe un rango óptimo de estos nutrientes, y su concentración depende del metabolismo y su interacción con otros elementos. El objetivo de este trabajo es caracterizar y comparar los niveles de estos micronutrientes en leche de bovinos, caprinos y ovinos; analizando la relación entre las concentraciones de dichos elementos con los parámetros físico-químicos principales de la leche. Se analizaron muestras de leche cruda de origen bovino, caprino y ovino de establecimientos de la provincia de Buenos Aires. Los análisis Físico-Químicos se realizaron con Analizador de leche ultrasónico LAC-SA Milk Analyzer (BOECO, Alemania) calibrado para leche de oveja, cabra y vaca. Se determinó la presencia de elementos traza en las mismas leches, previamente liofilizadas, por espectrometría de masa por plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS). Los resultados obtenidos señalaron que las características de las leches difieren significativamente entre especies y presentan gran variabilidad intraespecífica. En general, se observaron correlaciones significativas ( $r \geq 0.7$ ,  $p < 0,10$ ) entre los parámetros físico-químicos como densidad, lactosa, SNF (sólidos no grasos), sales, FP (Punto de fusión), proteínas y pH, y de Zn con densidad. En cuanto a los elementos traza analizados, en leche de oveja se encontró una correlación significativa entre Fe con grasas, Mn con SNF, proteínas, Cu y Mo y para Mo se encontró correlación con pH, FP, lactosa, y Zn con Cu y Mn. En las muestras de leche de cabra, se encontró correlación entre Fe y Cu, Mn con Cu y FP, Mo y pH y Zn con grasas. En cuanto a la leche bovina, se observó una correlación de Fe con FP, pH, densidad, lactosa, proteínas y sales, el Mn con Cu, el Mo con FP, Cu y Fe, y el Zn con el Mn. Este presente trabajo se contrasta con uno presentado anteriormente realizado en leche en polvo, donde solo se encontraron correlaciones entre Cu y Mn, y entre Zn y Mn, y en ningún caso con Fe. A partir de los resultados obtenidos se hace evidente la necesidad de profundizar el estudio de la caracterización y de los factores que influyen en la composición y características físico-químicas de la leche.



## **COPRO-LAMP PARA LA DETECCIÓN DE TRES ESPECIES DE *ECHINOCOCCUS GRANULOSUS* SENSU LATO EN HECES CANINAS, PUESTA A PUNTO EN ESCENARIO RURAL**

Avila, HG<sup>1,3</sup>; Valenzuela, F<sup>2</sup>; Pérez, V<sup>2</sup>; Carbajal, S<sup>2</sup>;  
Jensen, O<sup>3</sup>; Kamenetzky, L<sup>1</sup>; Rosenzvit M<sup>1</sup>

(1) LBMHid, IMPaM-UBA-CONICET, (2) Ministerio de Salud de San Juan, (3) Centro de Investigación en Zoonosis, Chubut. [avilahg@hotmail.com](mailto:avilahg@hotmail.com)

El diagnóstico temprano de la echinococcosis es una de las herramientas para el control de dicha zoonosis, en la actualidad se encuentran disponibles técnicas para la detección de *Echinococcus granulosus* sensu lato en hospederos intermediarios (ungulados), accidentales (humanos) y definitivos (canes). El diagnóstico en este último hospedero se ha centralizado en la copro-detección, dado que en las heces se liberan las oncósferas de los parásitos adultos presentes en el intestino delgado de canes infectados. La evolución del diagnóstico ha transitado desde técnicas *post mortem* como la necropsia y *pre mortem* como las purgas con bromhidrato de arecolina, detección de coproantígenos por ELISA y, actualmente se dispone de técnicas de biología molecular como PCR y LAMP. La copro-detección vía LAMP (*Loop mediated isothermal amplification*) es una técnica prometedora dada sus características de alta sensibilidad, especificidad, rapidez y particularmente su sencillez, ya que sólo se necesita equipamiento básico de laboratorio para su realización, porque no necesita ciclos de diferentes temperatura para la reacción. El objetivo de este trabajo fue evaluar la performance de LAMP para la coprodetección de tres especies de *E. granulosus* s.l. en un escenario rural. Para cada uno de los 3 pares de primers (*E. granulosus* s.s., *E. ortleppi* y *E. canadensis*) se evaluó la sensibilidad frente a diluciones de ADN de la especie correspondiente. Se evaluó la especificidad intra-especie así como frente a ADN de perro y *Escherichia coli* (abundante en materia fecal canina) y frente a parásitos zoonóticos presentes en heces de canes. Se mostró que la técnica puede detectar al parásito en heces caninas de perros de zona no endémica a las que se les agrego un parasito adulto. Además se comparó eficiencia utilizando termociclador y baño termostático. La evaluación en escenario rural se desarrolló en el Hospital de Barreal, en la provincia de San Juan. La técnica fue capaz de detectar 10fg de ADN aislado de *E. granulosus* s.s. y *E. ortleppi*, y 100 fg de *E. canadensis*, ninguno de los 3 pares de primers presentó reacción cruzada intra-especie, con ADN de perro, *E. coli* y parásitos zoonóticos frecuentes en heces caninas. La experiencia a campo demostró que la realización de la técnica es posible en un laboratorio con equipamiento básico. Los resultados obtenidos alientan la implementación de la copro-detección de distintas especies del complejo *E. granulosus* s.l. vía LAMP como una herramienta, sumada las disponibles, para el diagnóstico en el hospedero definitivo y control de la echinococcosis en zonas endémicas con equipamiento básico.

**COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS EN HEMBRAS Y HUEVOS DEL  
CAMARÓN CARIDEO DE IMPORTANCIA COMERCIAL *Neocaridina davidi*  
(Decapoda, Atyidae)**

Baliña, S<sup>1</sup>; Temperoni, B<sup>2</sup>; López Greco, LS<sup>1</sup>; Tropea, C<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Instituto de Biodiversidad y Biología Experimental y Aplicada (IBBEA, CONICET-UBA). Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. DBBE. Buenos Aires, Argentina

<sup>2</sup>Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero (INIDEP), Mar del Plata, Argentina.

Grandes cantidades de reservas son transferidas por las hembras a los oocitos durante la maduración ovárica en crustáceos decápodos de desarrollo directo. Este es el caso del camarón de agua dulce *Neocaridina davidi*, siendo los lípidos el principal componente del vitelo y fuente de energía para los embriones en desarrollo. El objetivo del presente trabajo fue analizar en mayor profundidad la fracción lipídica de las reservas bioquímicas presentes en las hembras y derivadas al ovario durante la vitelogénesis, determinando el perfil de ácidos grasos (AGs) de las madres y sus huevos. Para ello, juveniles recién eclosionados fueron mantenidos a una temperatura de 28°C hasta alcanzar la madurez sexual y aparearse. Las hembras ovígeras fueron sacrificadas inmediatamente luego de oviponer y sus huevos fueron removidos de los pleópodos, para luego determinar la composición de AGs de ambos. Tanto en las madres como en los huevos se observó una clara dominancia de ácidos grasos saturados (SFAs) y monoinsaturados (MUFAs) sobre los poliinsaturados (PUFAs) y altamente insaturados (HUFAs). La función principal de los primeros sería el aporte de energía. Por otra parte, los AGs más abundantes fueron el ácido palmítico (C16:0), ácido oleico (C18:1 n-9) y ácido linoleico (C18:2 n-6), lo cual coincide con la abundancia relativa de dichos AGs en la dieta suministrada a los camarones. El porcentaje de SFAs totales fue mayor en las madres que en los huevos, excepto por C15:0 y C16:0, cuyo porcentaje fue mayor en huevos. Los MUFAs, por su parte, fueron más abundantes en los huevos y esta diferencia se debió principalmente al ácido oleico. Dentro de los PUFAs se observó un mayor porcentaje de ácido linoleico y caléndico (18:3n-6) en los huevos que en las madres, pero no se encontraron diferencias para el ácido linolénico (18:3n-3). En cuanto a los HUFAs, tanto DHA (22:6n-3), como EPA (20:5n-3) y ARA (20:4n-6) fueron más abundantes en las madres que en los huevos. Los resultados obtenidos sugieren que la hembra transfiere a los oocitos grandes cantidades de ácido linoleico para su utilización por parte del embrión como precursor de DHA, el cual se destaca por su importante rol en la formación del sistema nervioso en los embriones y el éxito en su eclosión.

Financiamiento: CONICET (PIP 2015-2017 proyecto 112-20150100544; PIP 2009 proyecto 112-20080100815; PIP 2012-2014 proyecto 112-20110100892), UBACYT (2014-2017 proyecto 20020130100186BA) y PICT 2013-2016 nro. 0403.

**EFECTO DE LA TEMPERATURA Y EL ESTADO REPRODUCTIVO EN LA COMPOSICIÓN BIOQUÍMICA DE HEMBRAS Y HUEVOS DEL CAMARÓN ORNAMENTAL *Neocaridina davidi* (Decapoda, Atyidae)**

Baliña, S; López Greco, LS; Tropea C

Universidad de Buenos Aires. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Instituto de Biodiversidad y Biología Experimental y Aplicada (IBBEA, CONICET-UBA). Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. DBBE. Buenos Aires, Argentina

*Neocaridina davidi*, también conocido como “red cherry”, es una especie de camarón de agua dulce de importancia ornamental. El objetivo del presente trabajo fue analizar el efecto de la temperatura y la condición reproductiva sobre el estado fisiológico de las hembras y la calidad de sus huevos. Para ello, juveniles de *N. davidi* fueron criados a una temperatura control ( $28 \pm 1^\circ\text{C}$ ) o una temperatura alta ( $33 \pm 1^\circ\text{C}$ ) desde la eclosión hasta el inicio de la madurez sexual. Las hembras expuestas a  $28 \pm 1^\circ\text{C}$  maduraron el ovario, se aparearon y ovipusieron (*hembras ovígeras control*), mientras que a  $33 \pm 1^\circ\text{C}$  ninguna hembra maduró el ovario. Luego de 200 días de exposición a  $33 \pm 1^\circ\text{C}$ , parte de las hembras fueron transferidas a  $28 \pm 1^\circ\text{C}$ , donde rápidamente maduraron su ovario y ovipusieron (*hembras ovígeras transferidas*). Las hembras ovígeras control y transferidas fueron sacrificadas inmediatamente luego de oviponer y sus huevos fueron removidos de los pleópodos. Aquellas hembras con un peso mayor a 50 mg que no quedaron ovígeras a  $28 \pm 1^\circ\text{C}$  (*hembras no ovígeras control*) y a  $33 \pm 1^\circ\text{C}$  (*hembras no ovígeras de alta temperatura*) también fueron sacrificadas. Se determinó la composición bioquímica de los huevos recién desovados y de las hembras ovígeras y no ovígeras. La concentración de proteínas fue menor en los huevos de las hembras ovígeras transferidas, en comparación con aquellos de las hembras ovígeras control, mientras que las concentraciones de lípidos y glucógeno fueron similares. Las hembras ovígeras transferidas presentaron un mayor contenido de lípidos y proteínas que las hembras control, pero no se encontraron diferencias en la concentración de glucógeno. Por otra parte, la composición bioquímica no difirió entre hembras no ovígeras control y de alta temperatura, siendo el contenido de lípidos, glucógeno y proteínas de ambos grupos de hembras mayor respecto al de las hembras ovígeras. En conjunto, estos resultados muestran que, aunque la temperatura alta no afectó el estado fisiológico de las hembras, inhibió la maduración ovárica y por lo tanto la reproducción, efecto que se revirtió rápidamente tras la transferencia de las hembras a la temperatura óptima. La maduración ovárica y oviposición sí afectó el estado fisiológico de las hembras, en términos de su composición bioquímica.

Financiamiento: CONICET (PIP 2015-2017 proyecto 112-20150100544) y UBACYT (2014-2017 proyecto 20020130100186BA)

## **DESARROLLO DE MÉTODO ZIMOGRÁFICO PARA MEDIR LA ACTIVIDAD CASEINOLÍTICA EN LECHE BOVINA.**

Caggiano, N; Belitzky, N; Desimone, E

Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Fisiología Animal. Buenos Aires, Argentina. e-mail: edesimone@fvet.uba.ar

La leche contiene aproximadamente entre 32,5 y 36 g/L de proteínas, de los cuales el 80% corresponde a caseína y el 20% restante a proteínas del lactosuero. La caseína es de particular importancia por el valor nutricional que le aporta a la leche y además por tener un rol central en los productos vinculados a la industria láctea. En procesos inflamatorios de la glándula mamaria hay migración de leucocitos e incremento de número de células somáticas que pueden aportar proteasas que degraden la caseína. Para realizar un método zimográfico resulta necesario contar con la proteína sustrato de la proteasa a estudiar. Si bien la caseína puede ser purificada por métodos tradicionales, la misma precipita siendo imposible disolverla posteriormente en soluciones buffers que resulten apropiadas para realizar la zimografía. En este trabajo presentamos la puesta a punto de un método zimográfico para evaluar la actividad proteolítica en la leche, este método podrá en trabajos futuros relacionarse con la fisiopatología de la mastitis y el estado sanitario de la ubre. Para el desarrollo del método zimográfico hubo una primera etapa que consistió en la preparación del sustrato. Para esto se realizó un pool con muestras de leche proveniente de vacas clínicamente sanas y con recuento de células somáticas menor a 200.000 cél/ml. Durante la selección se evaluó la concentración de proteínas totales y se realizó un SDS-PAGE para determinar mediante densitometría la concentración de caseína total y resto de fracciones proteicas. Luego, se dializó frente al buffer de running de la corrida electroforética, de esta manera se obtuvo el sustrato proteico. El método zimográfico se basó en el método descrito con soporte de gelatina con modificaciones. Brevemente, se realizó un SDS-PAGE con 10% de acrilamida con el agregado de leche dializada correspondiente para una concentración final de 0,03 % de sustrato proteico en el gel. Se corrieron las muestras de leche a las cuales se le quería evaluar la actividad proteolítica. La puesta a punto de este método zimográfico con caseína demostró detectar degradación de caseína y la misma pudo ser cuantificable mediante densitometría. Esto nos permitirá en el futuro la determinación de actividad caseinolítica en tambos. Si bien la caseína es una proteína que se puede purificar con cierta facilidad la misma es insoluble para la mayoría de las soluciones salinas que se podrían emplear para agregar como sustrato en una electroforesis en geles de poliacrilamida. Nuestra preparación no necesita llevar a la caseína de la leche a la precipitación. Por otro lado, dado que las proteínas del lactosuero son minoritarias (<20% de proteínas lácteas totales), el método no es sensible para medir la degradación de estas proteínas. Siendo que la detección de actividad proteolítica por este método indica la actividad caseinolítica.

## VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA EN FRIGORÍFICOS OVINOS DE LA PATAGONIA SUR. EL CULTIVO BACTERIOLÓGICO PARA APOYAR EL DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS

Bernasconi, G<sup>5</sup>; Clapera, E<sup>2</sup>; Maidana, L<sup>3</sup>; Soules, A<sup>4</sup>;  
Falzoni, E<sup>1</sup>; Barandiaran, S<sup>1</sup>; Martinez Vivot, M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Enfermedades Infecciosas. <sup>2</sup>SENASA. Coordinador Temático de Inocuidad Agroalimentaria de la Regional Patagonia Sur. <sup>3</sup>SENASA. Supervisor de Inocuidad Agroalimentaria de la Regional Patagonia Sur. <sup>4</sup>SENASA. Supervisor de Inocuidad Agroalimentaria de la Regional Patagonia Sur. <sup>5</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Producción de Ovinos - SENASA. SIV Inocuidad Agroalimentaria de la Regional Metropolitana. e-mail: gbernasconi@fvvet.uba.ar

La tuberculosis bovina (TBB) es una zoonosis causada por el *Mycobacterium bovis*, endémica en la República Argentina y con mayor prevalencia en áreas lecheras del país, afectando a animales domésticos y salvajes (cerdos, ovinos, caprinos, camélidos, etc). Esta enfermedad está regulada bajo la Resolución SENASA 128/2012, en donde se contempla, entre otras consideraciones, la obligatoriedad de la tuberculinización en los ovinos de tambo y cabaña de reproductores. Si bien en la Argentina es muy rara esta enfermedad en los ovinos de majada general, no hay muchos trabajos que documenten dicha ausencia. Dentro de este marco, se aprecia fundamentar los registros obtenidos para demostrar la importancia que cobra la vigilancia epidemiológica en faena en los ovinos. El objetivo del presente trabajo fue confirmar por histopatología y cultivo bacteriológico, el diagnóstico de TBB en muestras de ovinos faenados en frigoríficos bajo inspección de SENASA de Patagonia Sur. Para ello se procesaron 92 muestras de órganos y linfonódulos mediastínicos y mesentéricos de ovinos procedentes de dos establecimientos de la localidad de Esquel, provincia de Chubut y tres de la localidad de Río Gallegos, provincia de Santa Cruz, de las cuales 8 presentaban lesiones compatibles con TBB. Las mismas fueron cultivadas en medios Stonebrink y Löwestein Jensen para el diagnóstico bacteriológico convencional y formoladas al 10% para el diagnóstico histopatológico. Los resultados de la histopatología de las 92 muestras procesadas y coloreadas con ZiehlNeelsen, no revelaron lesiones compatibles con TBB. Sin embargo 5 muestras presentaron lesiones relacionadas con pseudotuberculosis (lesiones granulomatosas conteniendo exudado purulento blanco amarillento) y 3 con quistes hidatídicos (cápsula de tejido conectivo limitando la membrana prolígera con abundante contenido líquido). Luego de 2 meses de incubación a 37° C, no hubo crecimiento en ningún medio de cultivo utilizado. La vigilancia epidemiológica en frigoríficos faenadores de ovinos, junto al cultivo y a la histopatología para confirmar o descartar tuberculosis, adquiere suma importancia ya que mediante el “*trace-back*” se podrían evidenciar aquellos establecimientos libres de la misma y de esta manera complementar en el diagnóstico de la enfermedad y en el status de la majada general.

## ECO-EPIDEMIOLOGÍA DE *CRYPTOSPORIDIUM* SP. EN HUMEDALES DEL NORESTE ARGENTINO. DISEÑO DE ESTUDIO

Berra, Y<sup>1,3</sup>; Gonzalez, L<sup>1</sup>; Orozco, M<sup>2,3</sup>; Degregorio, O<sup>1</sup>

- 1.- Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Salud Pública.
  - 2.- Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.
  - 3.- Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas – CONICET.
- e-mail: [yaninaberra@gmail.com](mailto:yaninaberra@gmail.com)

El concepto de “Una Salud” tiene un enfoque holístico con el fin de prevenir enfermedades epidémicas y epizoóticas, vinculando la salud humana, animal y ambiental, respetando la integridad de los ecosistemas. Múltiples agentes potencialmente patógenos circulan entre poblaciones animales y humanas, lo que puede resultar una amenaza para la salud global. El género *Cryptosporidium* incluye una gran diversidad de especies, muchas de las cuales pueden infectar a más de 150 especies de vertebrados incluido el hombre, causando infección en el tracto gastrointestinal. El objetivo general del estudio es describir y analizar los factores eco-epidemiológicos asociados a la infección por *Cryptosporidium* sp. en hospedadores mamíferos que habitan la interfase doméstico – silvestre en humedales del NE argentino y determinar si comparten los mismos genotipos de *Cryptosporidium* sp. En una primera etapa, se trabajará en la Reserva Natural Otamendi (RNO) -Campana, Pcia. de Buenos Aires- y alrededores, realizándose 4 campañas estacionales, durante 2 años. Para los animales silvestres, se procederá a un muestreo por líneas transectas a pie, en las que se colectarán muestras de materia fecal. Las muestras se clasificarán según geolocalización, especie, área de colecta, forma, color, olor y consistencia. Para el muestreo de los animales domésticos se procederá a visitar el 50% de los campos de la periferia de la RNO, donde se colectarán mediante la ayuda de los propietarios, muestras de caninos y felinos y se recorrerá el campo para las especies domesticas de producción. Para el estudio de caninos y felinos se registrarán los datos relacionados con el ejemplar y los hábitos de tenencia de los dueños. Para el diagnóstico, se determinará la concentración de ooquistes de *Cryptosporidium* sp. mediante una sedimentación en agua y flotación en solución azucarada. Se colorearán los ooquistes de *Cryptosporidium* sp. por la técnica de Ziehl Neelsen (en frío). Se realizará diagnóstico molecular por nested-PCR Y luego se secuenciarán los fragmentos génicos logrados y se compararán con las secuencias reportadas en el GeneBank para la determinación de especie. Se realizará un análisis ambiental que incluirá la medición y la confección de mapas para variables relacionadas a los sitios de colecta de muestras de materia fecal en función de los cursos de agua, la vegetación y la fauna predominante. Se utilizará el software ArcView 3x y el análisis estadístico se llevará a cabo mediante EpiInfo 8.0. Hasta la fecha se han realizado dos salidas de campo en las que se colectaron 8 muestras de materia fecal (4 de Ciervo de los pantanos -*Blastocerus dichotomus*- y 4 de carpincho -*Hydrochoerus hydrochaeris*) que se encuentran en procesamiento. Esta investigación permitirá profundizar el conocimiento de la eco-epidemiología de la cryptosporidiosis en ecosistemas protegidos, como lo son los humedales argentinos. A la vez, permitirá comprender el impacto y el potencial riesgo de transmisión de *Cryptosporidium* sp. en las diversas poblaciones susceptibles, y proponer medidas de prevención y control.

## DISEÑO DE MUESTRAS PARA SU IMPLEMENTACIÓN EN PANELES DE PRO-EFICIENCIA PARA EL DIAGNÓSTICO DE TRICHINELLOSIS PORCINA

Bessi, C <sup>1</sup>; Fariña, F <sup>1,2</sup>; Ribicich, M <sup>1,2</sup>; Pasqualetti, M <sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Parasitología y Enfermedades Parasitarias. Buenos Aires. Argentina.

<sup>2</sup>CONICET. Universidad de Buenos Aires. Instituto de Investigaciones en Producción Animal. (INPA). Facultad de Ciencias Veterinarias. Buenos Aires, Argentina.

e-mail: clarub59@gmail.com

La trichinellosis es una enfermedad causada por parásitos del género *Trichinella* spp., con reportes de casos en todo el mundo. La enfermedad se caracteriza por presentar una amplia gama de signos clínicos en el hombre. En la República Argentina, el principal reservorio es el cerdo, sin embargo la signología clínica suele no ser evidente. En los últimos años se ha detectado una dispersión en la aparición de casos humanos a lo largo del país. Durante el año 2015, fueron notificados 1338 casos de trichinellosis humana y en el año 2016, los casos registrados fueron 641. Este parásito ingresa a su hospedador, cuando el mismo ingiere carne cruda con larvas L1 enquistadas, las cuales luego de un período de evolución, llegarán al músculo estriado donde permanecerán encapsuladas por un tiempo variable. Debido a esto, el único procedimiento recomendado internacionalmente para la detección de larvas de *Trichinella* spp. en los tejidos musculares es la prueba de digestión artificial, considerado el método de agitación magnética la prueba *gold standard*. Los principales problemas que se detectaron en el diagnóstico fueron debido al uso de equipamientos e insumos inadecuados y a la falta de entrenamiento del personal para tal fin. La evaluación de la sensibilidad de la técnica diagnóstica por medio de la pro-eficiencia, es un punto clave para la acreditación de laboratorios de diagnóstico. Este trabajo tiene como objetivo realizar un método que permita la preparación de muestras fiables y reproducibles, con el fin de sistematizar la producción de las mismas, que podrán ser utilizadas en paneles de pro-eficiencia. Para lograr esto, se elaborarán diferentes matrices a partir de carne de cerdo libre de larvas musculares de *Trichinella*, a las cuales se les incorporarán un número conocido de larvas encapsuladas de *Trichinella spiralis*. Se realizaron ensayos para la obtención de larvas encapsuladas. Se inocularon ratones con 300 L1 de *T. spiralis*, a los 45 días post-infección se practicó la eutanasia y las carcasas fueron procesadas por medio de la técnica de digestión artificial, la cual fue modificada para evitar la liberación de las larvas musculares. Con el fin de facilitar la manipulación, conteo e inserción en las esferas de carne, las larvas encapsuladas fueron colocadas en diferentes matrices (agar-agar y gel de agarosa) que están siendo evaluados. El desarrollo de muestras de pro-eficiencia bajo un método fiable permitirá evaluar periódicamente la calidad de los examinadores y del proceso de diagnóstico y de esta forma lograr seguridad en los resultados obtenidos, siendo de fundamental importancia la correcta detección de larvas de *Trichinella* spp. para la salud pública, la vigilancia y el comercio.

Este trabajo es financiado a través del proyecto UBACyT 20020130100336BA y del proyecto PICT-2013-0965.

## PARÁMETROS DE CRECIMIENTO DEL PEJERREY *Odontesthes argentinensis*.

BIOLÉ, F<sup>1</sup>; VOLPEDO, A<sup>1,2</sup>; THOMPSON, G<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias, Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA-UBA-CONICET). <sup>2</sup> Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias, Centro de Estudios Transdisciplinarios del Agua (CETA-UBA). Buenos Aires, Argentina.

Los parámetros de la relación longitud-peso son ampliamente utilizados en pesquerías para estimar el peso de los peces y los índices de condición, así como también para el manejo de las mismas. Las variaciones del factor de condición ( $K_n$ ) brindan información sobre el estado fisiológico del pez. Desde el punto de vista nutricional, reflejan la acumulación de grasa y desarrollo gonadal. En el presente estudio se describe la relación longitud-peso y el factor de condición de *Odontesthes argentinensis* de la localidad costera de La Lucila del Mar, provincia de Buenos Aires. Los peces fueron colectados bimestralmente durante el periodo 2015 - 2017. Cada ejemplar fue medido (Longitud Total: LT en cm) y pesado (Peso Total: P en g) *in situ*. La relación longitud-peso,  $PT = aLT^b$ , fue estimada a través de una regresión  $\log(PT) = \log(a) + b \log(LT)$ . Se determinó el intervalo de confianza (95%) para los parámetros  $a$  y  $b$ . Se estimó el factor de condición relativo ( $K_n$ ) estacional para juveniles y adultos a partir de la ecuación  $K_n = PT/(aLT^b)$  a lo largo del período en estudio. Se consideró como talla de madurez sexual de los peces a 16,1 cm. Se examinó un total de 938 ejemplares (juveniles n: 697 y adultos n: 241), siendo el rango de LT de 4 a 36 cm y el PT de 0,33 a 330 g. La ecuación de la relación longitud-peso fue  $PT = 0,00588LT^{3,01}$  ( $p < 0,01$ ;  $r^2 = 0,99$ ). El parámetro  $b$  se encontró dentro del rango esperado de 2,5 - 3,5 y por lo tanto se asume un crecimiento isométrico. El análisis del  $K_n$ , permitió verificar la existencia de diferencias estacionales tanto para juveniles (Kruskal Wallis,  $p < 0,01$ ) como adultos (Kruskal Wallis,  $p < 0,01$ ). El  $K_n$  de juveniles fue de menor valor en primavera ( $K_n = 0,88$ ) y más alto en verano ( $K_n = 1,04$ ). En relación a los adultos, los valores más bajos fueron obtenidos durante otoño ( $K_n = 0,95$ ) e invierno ( $K_n = 0,96$ ), mientras que el valor más alto fue durante primavera ( $K_n = 1,03$ ), asociado a que esta es la estación reproductiva de la especie. Los resultados de este trabajo evidencian que *O. argentinensis* presentó una buena condición corporal a lo largo del periodo estudiado.



## ANTAGONISMO DE *Bacillus* spp. AUTÓCTONO SOBRE CEPAS DE *Escherichia coli* PRODUCTOR DE TOXINA Shiga (STEC)

Blanco Crivelli, X<sup>1</sup>; Bentancor, A<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Microbiología. Buenos Aires, Argentina.

El género *Bacillus* está ampliamente distribuido en la naturaleza, siendo pocas las especies patógenas para los animales y el hombre. Varias especies de *Bacillus* han sido utilizadas a través de la historia como productoras de antibióticos, bacteriocinas, enzimas, probióticos y agentes de exclusión competitiva. El objetivo del presente trabajo fue determinar la capacidad antagónica de una selección de aislamientos autóctonos de *Bacillus* spp. frente a los serotipos de *Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC) de mayor impacto clínico, y frente a cepas de otros géneros. Se realizó el desafío *in vitro* de cultivos puros de cepas STEC y de cepas no-*E. coli* con 6 cepas de *Bacillus* spp. Se utilizaron cepas STEC de serogrupos prevalentes en Argentina (O157, O145, O121, O26 y O174), junto a los incorporados a la modificación del Código Alimentario Argentino (O111 y O103) y los controles negativos *E. coli* ATCC 25922 y NCTC 12900. Se evaluaron cultivos de *Cándida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Serratia* spp., *Enterococcus* spp., *Salmonella* spp., *Klebsiella* spp. y *Pseudomonas* spp. Se realizaron dos protocolos de ensayo: 1- Suspensiones (0,5 MF) de cepas *E. coli* y no-*E. coli* se sembraron por diseminación en agar tripteína soja (ATS). Posteriormente se inoculó una gota (10 µl) de una suspensión (0,5 MF) de cada cepa de *Bacillus* spp. sobre el cultivo diseminado, y se evaluó el efecto antagónico durante 7 días (a 37 °C, 28 °C y 12 °C). Los efectos inhibitorios (halos) fueron cuantificados en rangos de 0,5 mm. 2- De cada cepa de *Bacillus* spp. se inoculó 10 µl de cultivo en el centro de una placa de ATS y se sembraron en forma radial, a una distancia de 0,5 cm, las cepas de *E. coli* y no-*E. coli*. Se evaluó el efecto antagónico en el cocultivo durante 7 días a pH 4,5; 7 y 8 a 37 °C, 28 °C y 12 °C. Los protocolos se realizaron por triplicado. Todas las cepas de *Bacillus* spp. en estudio ejercieron un efecto antagónico a 37 °C en *Salmonella* spp., *Klebsiella* spp., *Serratia* spp. La temperatura óptima de antagonismo de todas las cepas de *Bacillus* spp. sobre *E. coli* fue 37 °C, sin embargo a 29 °C se detectó efecto inhibitorio en S45 y S178, e incluso S178 inhibió a 12 °C. La cepa S45 y en mayor medida S178, tuvieron efecto inhibitorio en los controles negativos (*E. coli* ATCC25922 y NCTC 12900). A 37 °C y pH ácido, S45 y S178 tuvieron mayor desarrollo que a pH neutro o básico. El efecto antagónico de S178 a pH básico fue más evidente, pero sobre un espectro de cepas menor. A pH ácido y neutro no hubo diferencias respecto a la inhibición. El efecto antagónico de S178 se diferencia del resto de las cepas autóctonas en que se observa en forma más temprana (a las 48 h de cocultivo), mientras que S45 lo hace a las 72 h y el resto de las cepas recién a las 144 h. El efecto antagónico de las cepas de *Bacillus* spp. seleccionadas es versátil respecto a temperaturas y pH. Ha demostrado efecto antagónico sobre STEC y enterobacterias que son patógenos primarios/oportunistas a 37 °C. Se destaca S178 como candidato a pruebas de inocuidad *in vivo*.

## **EVALUACIÓN DE LA DISPONIBILIDAD Y CALIDAD DEL AGUA EN UNA POBLACIÓN RURAL DE SANTIAGO DEL ESTERO**

Bonilla, Y<sup>1</sup>; Arreghini, S<sup>1</sup>; Coronel, S<sup>2</sup>; Lobert, F<sup>3</sup>; Aparicio, V<sup>4</sup>; Serafini, R<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Catedra química analítica, Departamento de Recursos Naturales y Ambiente. Facultad de Agronomía- UBA. <sup>2</sup> INTA Santiago del Estero- Programa Nacional Prohuerta. <sup>3</sup>Fundación Huerta Niño, Programa Aguasanas. <sup>4</sup>INTA Balcarce, Programa Nacional de Suelos.

Las actividades agropecuarias y los recursos hídricos subterráneos en el Noroeste Argentino (NOA), se ven condicionados por el medio ambiente. Es así como las características de los estratos sedimentarios de esta región, presenta arsénico en las aguas subterráneas, mientras que el uso de agroquímicos ha extendido el problema de contaminación en aguas superficiales y de lluvia. El objetivo de este trabajo es evaluar la percepción de la población rural respecto de la disponibilidad de agua y su calidad para consumo humano en poblaciones rurales de la provincia de Santiago del Estero. Durante este desarrollo, se identificaron 10 Parajes y/o Pueblos en los Departamentos de: Jiménez, Río Hondo y La Banda para un total de 227 familias (871 habitantes) registrados. Se consideraron las necesidades de las familias aplicando 63 encuestas (334 habitantes) y 8 entrevistas a líderes comunitarios de la zona. Se realizó una clasificación etarea representada principalmente: por jóvenes entre los (13-35 años) por el 41% y por adultos entre los (36-65 años) por el 27%. Se consideró la fuente principal de agua de consumo así: el 92% de la población total consume agua subterránea de 15 perforaciones para luego almacenarla en: tanques plásticos (84%), bidones (81%), aljibes (53%) y cisternas (34%). Las familias que consumen agua de lluvia están representadas por un 8% de la población, ellas almacenan el agua en: cisternas (66%), aljibes (47%), tanques plásticos (16%) y bidones (19%). Según lo reportado por las familias, el agua es usada principalmente para: consumo, higiene personal y limpieza por el 100%, otro 93% la usan para bebida animal y el otro 25% para riego de la huerta. El 79% de la población no realiza ningún tratamiento previo al agua de consumo. El 63% de las familias asegura que no disponen de agua con frecuencia. El 54% considera que existe una relación entre la calidad del agua y las características de las enfermedades padecidas: siendo el padre el principal afectado por un 34%, seguido por los hijos en un 33%. El 16% aseguró que el agua podría presentar diferentes contaminantes como (restos de animales vegetales y plaguicidas) pues el 55% de las familias viven próximos a cultivos. Con el fin de verificar la información suministrada por parte de las familias, se proyectó, paralelamente a este trabajo de relevamiento, la recolección de muestras de agua; así fue, como para la época de verano del año 2016, se identificaron 44 puntos y se tomaron 129 muestras puntuales, 84 para Agua Subterránea y 45 para Agua de Lluvia. Se realizaron análisis, para parámetros microbiológicos, fisicoquímicos y algunos plaguicidas. Del análisis de la información surge que la mayoría de los encuestados carece de un conocimiento concreto acerca del problema de contaminación al que se encuentran expuestos, a pesar de que un alto porcentaje de las enfermedades padecidas pueden asociarse directamente con consumo de agua de baja calidad, deficiencias en la higiene personal o falta de mantenimiento de los pozos. Estos resultados deberían ser acompañados por una adecuada difusión para garantizar un cambio en la gestión que promueva una mejora en la calidad de vida.

## RELACIÓN DE CEPAS DIARREOGÉNICAS DE *ESCHERICHIA COLI* CON IMPACTO EN LA NIÑEZ EN BOVINOS DE TIERRA DEL FUEGO. COMUNICACIÓN PRELIMINAR

Bonino, MP<sup>1</sup>; Bentancor, A<sup>1</sup>; Blanco Crivelli, X<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidad de Buenos Aires; Facultad de Ciencias Veterinarias; Cátedra de Microbiología. Buenos Aires, Argentina.

Dentro de los patovares de *Escherichia coli* con impacto en la niñez se destaca *E. Coli* shigatoxigénico (STEC), con presentación endémica en Argentina. La patogenia de STEC incluye cuadros asintomáticos, de diarrea leve y severa, síndrome urémico hemolítico (SUH), y en ocasiones la muerte del paciente. Se ha documentado como principal reservorio al bovino y la contaminación de su carne en la faena como la fuente de infección más frecuente. En Tierra del Fuego (TDF), la tasa de SUH y de diarreas es elevada. TDF no cuenta con estudios de portadores ni reservorios de STEC. Constituye un modelo diferente, con una situación climática muy diferenciada, sin importación de animales en pie, siendo su población bovina nativa. El objetivo de este estudio ha sido determinar la portación de STEC en bovinos de TDF destinados a faena. Se realizó un estudio epidemiológico transversal observacional durante Julio 2016 para la detección de cepas STEC, diferenciando tipo de producción (campo o feedlot) y playa de faena. El muestreo fue dirigido por accesibilidad en las dos playas de faena existentes (Ushuaia y Río Grande). Para cada animal se tomó una muestra por hisopado rectal. Para la detección de cepas STEC (O157 y no-O157) se realizó pre-enriquecimiento en caldo, con posterior separación inmunomagnética (O157) seguido de siembra en agar Mac Conkey (no-O157) y Mac Conkey sorbitol (O157). Se realizó PCR múltiple de *stx2*, *stx1*, *rfbO157* de la zona de confluencia de colonias. Las muestras fueron clasificadas en 3 categorías: positivos (*stx+* por PCR, con aislamiento), sospechosos (*stx+* por PCR, sin aislamiento), y negativos (*stx-*). Los resultados fueron analizados mediante test de diferencia de proporciones. Se analizaron 194 muestras de bovinos de TDF. En muestras de feedlot provenientes de Río Grande se identificaron 13/104 positivas; sus perfiles de virulencia fueron 1/13 *stx1*, 7/13 *stx2* y 5/13 *stx1/stx2*; mientras que 4/104 fueron sospechosas. En muestras de campo de Río Grande 3/20 fueron positivas, 1/3 *stx2* y 2/3 *stx1/stx2*. En Ushuaia (animales a campo) se detectaron 4/70 muestras positivas, todas ellas *stx2*, y 5/70 sospechosas. No se observaron diferencias estadísticas significativas en la detección de cepas STEC considerando el tipo de producción y la playa de faena. Los resultados permiten determinar una portación de STEC del 5.7 al 15 % dependiendo del origen, proporción menor a la informada en el resto del país. Para justificar la dinámica epidemiológica de la región cabe considerar si las cepas aisladas codifican factores de virulencia adicionales, la presencia de otros reservorios, la contaminación de alimentos y la percepción de riesgos de la comunidad.

## **GRADO DE PERCEPCIÓN DE RIESGO DE CONTAMINACIÓN POR *Escherichia coli* PRODUCTOR DE TOXINA Shiga EN LA COMUNIDAD DE TIERRA DEL FUEGO. (COMUNICACIÓN PRELIMINAR)**

Broglia, A<sup>1,2</sup>; Bentancor, A<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Microbiología. Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup> CONICET. Buenos Aires, Argentina.

Argentina tiene una alta incidencia de casos de síndrome urémico hemolítico (SUH) y Tierra del Fuego (TDF) tiene la mayor incidencia de casos en el país. Entre los agentes causales del SUH se destaca *Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC), asociado a enfermedades de transmisión alimentaria (ETA), por contaminación de alimentos y agua con una dosis infectiva muy baja (< 100 UFC/g). Las malas prácticas de manufactura e higiene del manipulador de alimentos se deben a hábitos y costumbres realizados en forma cotidiana, ocasionados por fallas en su percepción del riesgo. La percepción de riesgo de la comunidad de TDF se puede analizar mediante el relevamiento de conocimientos, actitudes y percepción de riesgo (encuesta CAP) de manipuladores de alimentos. El objetivo de este trabajo es evaluar los conocimientos, actitudes y percepción de riesgo de los manipuladores de alimentos de tres comunidades de TDF y compararlos con los de CABA. Se realizaron encuestas a 250 habitantes de 3 comunidades de TDF, Ushuaia, Tolhuin y Río Grande respectivamente. Se analizaron mediante el programa Epi Info y se compararon los resultados con 383 encuestas realizadas en CABA, mediante el test de diferencias de proporciones (Statistix). Del total de datos analizados se encontraron diferencias significativas entre TDF y CABA en conocimientos: Respecto al tiempo en el que la carne cruda puede respetar el límite de temperatura para no perder la cadena de frío, en TDF el desconocimiento fue el 17,2% y en CABA 9,6%. Lo mismo ocurrió con respecto a la carne cocida, en TDF se registraron fallas en el 60% y en CABA en el 41,3%. En actitudes: acerca del lugar donde guardan los alimentos cocidos para su posterior consumo, para evaluar si se mantiene el alimento en refrigeración, en CABA un 83,2% realiza esta acción de forma correcta mientras que en TDF solo el 66,8%. En percepción: el 82% de la población encuestada de TDF cree que la carne molida congelada no tiene riesgos, mientras que dicha percepción sólo fue del 34,7% en CABA. Similares resultados se observaron al considerar carne molida refrigerada; el 48% de TDF cree que no presenta riesgo en relación al 25,5% de CABA. Si bien TDF tiene temperaturas ambientales más bajas que CABA a lo largo de todo el año, las temperaturas hogareñas, donde se almacenan y elaboran los alimentos son más altas y constantes durante todo el año. Esto implica un mayor riesgo a la hora de realizar prácticas de manufactura hogareñas, pudiendo generar alteraciones en los alimentos y producir ETA. Identificar los conocimientos, actitudes y percepción de riesgo de la comunidad de TDF permitirá determinar los factores de riesgo locales y focalizar e intensificar trabajos preventivos sobre SUH, otras ETA, buenas prácticas de manufactura (BPM) y medidas higiénico sanitarias. A su vez, se podrá evaluar si estas prácticas están relacionadas con la alta incidencia de SUH en la provincia.

## **EVALUACIÓN DE PROTEASAS Y PROTEÍNAS EN MUESTRAS DE LECHE DE VACAS SANAS Y CON MASTITIS**

Caggiano, N<sup>1</sup>; Crespi, E<sup>2</sup>; Pareja, R<sup>1</sup>; De Simone, E<sup>1</sup>; Chiappe Barbará, A<sup>1</sup>

Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Fisiología Animal. <sup>2</sup>Cátedra de Microbiología.

Buenos Aires, Argentina. e-mail: edesimone@fvvet.uba.ar

La mastitis es la patología con mayor morbilidad y mortalidad dentro de los rodeos lecheros, afectando seriamente a la producción láctea y la calidad de la leche. Es así que su tratamiento y control es de vital importancia en los esquemas productivos lecheros. En los procesos de mastitis se puede afectar la cantidad de proteína láctea como consecuencia del incremento de proteasas. En este trabajo nos propusimos evaluar las proteasas y el perfil proteico en leche de vacas sanas, con mastitis subclínica y con mastitis clínica. Para ello se tomaron muestras de leche de 200 vacas y vaquillonas provenientes de distintos tambos de la Provincia de Buenos Aires, los animales fueron divididos en los siguientes grupos: sanas, mastitis subclínica y mastitis clínica. Se realizó la prueba de mastitis californiana para determinar a cuál grupo pertenecían los animales. Luego se realizó cultivo bacteriológico. La determinación de las MMP-2 y 9 fue realizada mediante el método zimográfico en gelatina y la actividad caseinolítica en zimografía en caseína. Para la evaluación de las proteínas en leche se realizó un SDS-PAGE en un gel con 12% de acrilamida. La concentración de proteínas totales de la leche se determinó mediante la utilización del kit Proti 2 de Wiener lab., Argentina. Se realizó ANOVA One Way y test de Tukey como análisis estadístico, excepto la evaluación de MMP-9 en donde se utilizó Chi-Cuadrado. Los resultados obtenidos en relación a la MMP-2 no tuvieron diferencias significativas a pesar de que se observa una tendencia de aumento en el grupo de mastitis clínicas en relación a las vacas sanas y a las subclínicas. En cuanto a la MMP-9 si se observaron diferencias significativas entre todos los grupos ( $p < 0,0001$ ). La actividad caseinolítica fue mayor en los grupos de mastitis clínicas y subclínicas, encontrándose diferencias significativas entre el grupo de sanas y mastitis clínicas y éstas últimas y subclínicas ( $p < 0,05$ ). En lo que respecta a proteínas totales no se observaron diferencias significativas entre los grupos, sí se observaron diferencias significativas en la alfa y la kappa caseína entre el grupo de sanas y mastitis clínicas y éstas y subclínicas ( $p < 0,0001$ ). También se observó un aumento significativo en las proteínas de alto peso molecular en el grupo de animales con mastitis clínicas en relación a sanas y subclínicas ( $p < 0,0001$ ), esto se debe principalmente al influjo de proteínas séricas a la glándula mamaria. Podemos concluir que la actividad de diversas enzimas proteolíticas se ven aumentadas en los animales con mastitis clínicas. Este aumento va en detrimento de la calidad láctea, ocasionando una disminución de la caseína en sus distintas fracciones. Por otra parte queda evaluar el rol de las proteasas sobre el tejido glandular.

## **MODIFICACIÓN DEL TEST DE DISPERSIÓN DE CROMATINA PARA LA EVALUACIÓN DEL ADN ESPERMÁTICO EQUINO.**

Caldevilla, M<sup>1</sup>; Carretero, M<sup>1,2</sup>; Neild, D<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA), Cátedra de Teriogenología. Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>CONICET. Buenos Aires, Argentina.

En los últimos años existe un interés creciente en incluir la valoración del ADN espermático dentro de la evaluación de rutina de las características seminales, debido a algunos trabajos que correlacionan el grado de daño del ADN con varios índices de fertilidad como tasas de: fertilización, división celular, desarrollo embrionario, implantación, preñez y parición. Sin embargo, las pruebas de evaluación del ADN no se encuentran dentro de las técnicas que comúnmente se utilizan para determinar la calidad seminal, generalmente por la complejidad de las mismas. Existen diferentes métodos para evaluar ADN espermático, uno de ellos es el “Sperm Chromatin Dispersion assay” (SCD) que se basa en la desproteínización nuclear luego de exponer espermatozoides a soluciones de lisis, formando o no un halo de dispersión de la cromatina según la fragmentación del ADN. El SCD es una técnica compleja que requiere del uso de varias soluciones que deben ser preparadas en el momento, lo que alarga los tiempos de realización de la misma. El objetivo de este trabajo fue simplificar la técnica SCD para evaluar la fragmentación del ADN en espermatozoides equinos, utilizando solo una solución de lisis en lugar de dos. Se evaluaron un total de 10 eyaculados de semen equino congelado provenientes de 5 padrillos (n=5, r=2). Para realizar la técnica del halo se utilizó el siguiente protocolo: las muestras se diluyeron con PBS para obtener una concentración final de 5 a 10 millones de espermatozoides/ml. Luego, se mezcló 40µl semen con 100 µl agarosa y se colocaron gotas sobre un portaobjetos con agarosa de punto de fusión normal e inmediatamente se cubrieron con cubreobjetos. Se dejaron solidificar 10 minutos a 4 °C, luego los cubreobjetos se retiraron cuidadosamente y los portaobjetos se incubaron con una solución ácida. Posteriormente, un portaobjeto fue incubado sucesivamente en dos soluciones de lisis (protocolo habitual) y otro portaobjeto fue incubado en una única solución de lisis (protocolo simplificado). Finalmente, ambos se deshidrataron en alcoholes (70°, 85° y 96°) y se tiñeron con Giemsa durante 15 minutos. Se observaron 100 espermatozoides con microscopio óptico (1000x). El análisis estadístico se realizó mediante una t de Student apareada. No se observaron diferencias significativas (p>0,05) en los porcentajes de espermatozoides equinos con ADN intacto y los espermatozoides equinos con ADN fragmentado entre la técnica habitual ( $97 \pm 1,26$  y  $2,5 \pm 1,27$  respectivamente) y la versión simplificada ( $97,5 \pm 0,97$  y  $2,5 \pm 0,98$  respectivamente). Como conclusión, podemos decir que es posible simplificar la técnica de SCD en espermatozoides de semen equino, permitiendo acortar los tiempos de realización de la misma, además de reducir los costos. Esto permitiría incluirlo en las valoraciones espermáticas de rutina, contribuyendo a una evaluación seminal más completa.

## **EFEECTO DEL TROLOX (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico) EN LA CALIDAD ESPERMÁTICA DEL SEMEN PORCINO REFRIGERADO**

Camporino, A; Córdoba, M

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA), Cátedra de Química Biológica.

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Unidad Ejecutora de Investigaciones en Producción Animal (INPA, UBA-CONICET), Buenos Aires, Argentina.

Los métodos de refrigeración son utilizados por productores del sector agropecuario para la conservación del semen empleado en inseminación artificial. La elevada concentración de ácidos grasos insaturados en los espermatozoides porcinos los hace más susceptibles que otras especies al daño producido durante el almacenamiento a bajas temperaturas. Un compuesto sintético derivado del alfa-tocoferol denominado 'Trolox' produce la ruptura de radicales libres de oxígeno, ejerciendo un efecto antioxidante al prevenir la peroxidación de lípidos de membrana y el consecuente daño en gametas sometidas a procesos de refrigeración. El objetivo de la beca es estudiar el efecto que tiene la refrigeración de espermatozoides de la especie porcina con y sin el agregado de Trolox en el diluyente. Se trabajó con un pool de muestras de semen que fue separado en dos alícuotas iguales, siendo una de ellas tratada con Trolox y ambas almacenadas a 17°C. Se evaluaron al día 0 (semen fresco), 1, 2 y 5 de refrigeración los siguientes parámetros funcionales: viabilidad e integridad acrosomal con la tinción de azul tripán y microscopia óptica de Contraste Diferencial Interferencial (DIC), integridad funcional de la membrana plasmática con el Test Hipoosmótico (Hos Test), potencial de membrana mitocondrial con el fluorocromo JC-1 y estado de pre-capacitación con la tinción de Clorotetraciclina (CTC). El porcentaje de vitalidad en semen fresco fue de  $76,33 \pm 5,85\%$ . Las muestras refrigeradas sin Trolox presentaron un porcentaje de vitalidad de  $57,00 \pm 11,02\%$ ,  $44,8 \pm 6,87\%$  y  $38,5 \pm 8,06\%$  al día 1, 2 y 5 post refrigeración respectivamente ( $p < 0,05$ ). Las muestras con Trolox presentaron un porcentaje de vitalidad de  $63,25 \pm 13,89\%$ ,  $47,00 \pm 8,48\%$  y  $43,33 \pm 18,58\%$  al día 1, 2 y 5 respectivamente ( $p < 0,05$ ), encontrando una mejora en la viabilidad espermática en los días 1 y 5 post refrigeración con Trolox ( $p < 0,05$ ). La diferencia entre el porcentaje de integridad acrosomal y de membrana de muestras tratadas y no tratadas no fue significativa ( $p > 0,05$ ). El porcentaje de precapacitación fue de  $14,5 \pm 5,97\%$  en semen fresco. Las muestras refrigeradas sin Trolox presentaron un porcentaje de precapacitación de  $20,25 \pm 6,94\%$ ,  $18,25 \pm 4,64\%$  y  $20 \pm 6,92\%$  al día 1, 2 y 5 respectivamente. Las muestras refrigeradas con Trolox presentaron un porcentaje de precapacitación de  $20,67 \pm 6,11\%$ ,  $20 \pm 4,00\%$  y  $17 \pm 6,00\%$  al día 1, 2 y 5 respectivamente, siendo significativamente menor al día 5 post-refrigeración en comparación a las no tratadas ( $p < 0,05$ ). El potencial de membrana mitocondrial de las muestras tratadas fue menor al del semen fresco ( $p < 0,05$ ). A partir de lo analizado hasta el momento se observó que el agregado de Trolox mantiene un estado redox intracelular bajo, mejorando la viabilidad con un menor porcentaje de espermatozoides precapacitados, pudiendo contribuir a la mejora de la calidad espermática y de las condiciones de refrigeración.

## PRESENCIA DE *M. BOVIS* EN JABALÍES SILVESTRES DE LA LOCALIDAD DE BAHÍA BLANCA, SIN LESIONES COMPATIBLES CON TUBERCULOSIS

Campos, L<sup>(1)</sup>; La Sala, L<sup>(2)</sup>; Carusso, C<sup>(1)</sup>; Falzoni, E<sup>(1)</sup>;  
Marfil, MJ<sup>(3)</sup>; Zumarraga, M<sup>(3)</sup>; Martínez Vivot, M<sup>(1)</sup>; Barandiaran, S<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Enfermedades Infecciosas, <sup>(2)</sup>CONICET Bahía Blanca, Buenos Aires. <sup>(3)</sup>Instituto de Biotecnología, CICVyA – INTA, Hurlingham.

El jabalí (*Sus scrofa*) nativo de Eurasia y norte de África, es el mamífero con más amplia distribución en el mundo. Estos ejemplares de vida silvestre juegan un papel crucial en la epidemiología de enfermedades en animales de granja. Es por ello que la evaluación de la propagación de infecciones como la tuberculosis, tanto en animales silvestres como domésticos, es esencial para prevenir y controlar su propagación. En la Argentina, la mayor cantidad de carne de jabalí comercializada proviene de la caza, donde luego se consume principalmente en forma de embutidos y encurtidos, como especialidad o *delicatesen*. El objetivo fue detectar la presencia de *M. bovis* en muestras de jabalíes silvestres por métodos bacteriológicos y moleculares. Se recolectaron 26 muestras de jabalíes provenientes de la caza, en la localidad de Bahía Blanca, provincia de Bs. As. Las muestras constaron de diferentes órganos y linfonódulos. Las mismas no presentaban lesiones compatibles con tuberculosis a excepción de una con una pequeña lesión blanquecina en el hígado. El diagnóstico se abordó utilizando las técnicas de cultivo bacteriológico (en medios selectivos Stonebrink y Löwenstein Jensen), y PCR-*IS6110* para la detección del complejo *Mycobacterium tuberculosis* (CMTB) a partir del tejido. También los aislamientos se tipificaron por *Spoligotyping*. De las 26 muestras examinadas, 5 desarrollaron colonias características en el medio ST en un primo cultivo, y 5 fueron positivas por PCR *IS6110*, concordando los resultados de las dos técnicas en tres muestras. En los dos casos en donde la PCR de tejido fue positivo y el cultivo negativo, se repitió la siembra en medio ST hasta 3 veces logrando, finalmente, el aislamiento. La tipificación por *Spoligotyping* arrojó 4 patrones; Spol. 34, 21, 12, 35. La utilización conjunta del cultivo y la PCR de tejidos, aumentan la sensibilidad diagnóstica de la tuberculosis porcina. En este trabajo se observó que si hubiéramos utilizado solo la técnica de PCR sobre tejidos habríamos informado dos falsos negativos, al igual que si hubiéramos utilizado solo el cultivo bacteriano. Con ambas técnicas las muestras positivas fueron 7 en lugar de 5, en una primera instancia. A su vez, la utilización de métodos moleculares brinda un diagnóstico rápido y efectivo, hecho relevante dentro de la salud pública, teniendo en cuenta que estos animales son consumidos, en general, inmediatamente luego de la caza.



## **ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO DE LA TUBERCULOSIS PORCINA, DETECCIÓN DE FACTORES DE RIESGO RELACIONADOS A LOS ECOSISTEMAS DE LAS PRODUCCIONES**

Carusso, C<sup>1</sup>; Campos, B<sup>1</sup>; Marfil, M.J<sup>1</sup>; Perez Aguirreburualde, S<sup>1</sup>; Falzoni, E<sup>1</sup>;  
Zumarraga, M<sup>2</sup>; Martinez Vivot, M<sup>1</sup>; Barandiaran, S<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Enfermedades Infecciosas. <sup>2</sup>Instituto de Biotecnología, INTA, Hurlingham, Argentina.

Los cerdos son susceptibles a diferentes micobacterias, las que integran el complejo *Mycobacterium tuberculosis* y las del complejo *Mycobacterium avium* (MAC). Existen características o factores de riesgo que influyen en la especie de micobacteria que los afecta como ser la situación de la tuberculosis bovina en el ganado de la región, el tipo de explotación en que se crían los cerdos, la presencia de aves de corral, entre otras. Adicionalmente se conocen otros factores asociados a una mayor prevalencia de la enfermedad como hacinamiento de los animales, falta de higiene, contacto de los cerdos con diferentes especies, carencias en las instalaciones, etc. El objetivo de este trabajo fue evaluar factores de riesgo relacionados a la ocurrencia de la enfermedad con características epidemiológicas de las producciones porcinas. Se seleccionaron 40 establecimientos de Buenos Aires. Se recolectó información mediante el RENSPA. Se comparó los resultados del laboratorio con la información epidemiológica obtenida en SENASA. Para estimar riesgo de ocurrencia de un evento se utilizó el programa WinEpi y se seleccionaron las siguientes variables: número de animales de las granjas, convivencia con otras especies y características sanitarias de los establecimientos. De los 40 establecimientos se tomaron 72 muestras con lesiones compatibles con tuberculosis. Se clasificaron en negativas 21 y positivas 51. Mediante la estimación de los factores de riesgo se obtuvieron resultados significativos en dos de las tres variables investigadas. Una de ellas fue el stock de animales en el establecimiento, se clasificó a las granjas en mayores de 500 cerdos y con menos de 500. Se observó, con un nivel de confianza del 95%, que en las producciones con menos de 500 animales, estos tienen una mayor probabilidad de enfermar y se las consideró un factor de riesgo. Otra variable fue la presencia de registros de focos de triquinosis, al asociar este dato con una baja higiene en los establecimientos. Por lo tanto se considera que la presencia de focos de triquinosis es un factor de riesgo. Concluimos que existen variables epidemiológicas que predisponen a la ocurrencia de la tuberculosis. En este trabajo se identificaron como factores de riesgo a las producciones con un stock de animales menor a 500 y a la declaración de focos de triquinosis. Esto seguramente se debe a que en las granjas más chicas la sanidad de los cerdos está menos controlada y la tecnificación de las instalaciones es menor. Por otro lado, si bien la variable convivencia con otras especies no fue significativa, habría que considerarla ya que podría representar un factor de riesgo en otro contexto epidemiológico. Suponemos que por las características de la cría de cerdos en nuestro país, en un alto porcentaje los cerdos coexisten con alguna especie animal diferente. Esta variable se encontró en una misma proporción en establecimientos positivos y negativos en este estudio de investigación.

## EXPRESIÓN DE ARNm DE CAST ALTERNATIVAMENTE POLIADENILADOS EN NOVILLOS SEGÚN MÚSCULO Y RAZA

Casale, MF, Soria, LA

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Genética  
Email: florcasale@hotmail.com

La terneza de la carne es en gran medida controlada por el proceso de proteólisis *postmortem* a nivel de las proteínas miofibrilares del músculo esquelético. En este proceso de proteólisis tienen un rol principal proteínas de la familia de las calpaínas (cistein-proteasas activadas por calcio) y su inhibidor natural, la calpastatina. Numerosos trabajos han demostrado la influencia de los factores genéticos en la determinación de la terneza de la carne, mediante la comparación entre o aún dentro de razas. La menor terneza de la carne de razas cebuinas en comparación a razas europeas ha sido consistentemente atribuida a una menor proteólisis miofibrilar, asociada a una mayor actividad de la calpastatina. El objetivo de este plan de trabajo es analizar las diferencias de expresión de los ARNm del gen de calpastatina (CAST) alternativamente poliadenilados en tres músculos de novillos Angus y Brahman, y determinar su asociación con composición de tipo de fibra muscular (% área relativa de cada tipo de fibra o %AR), actividad enzimática de calpastatina (AC) e índice de fragmentación miofibrilar (IFM). Se utilizarán muestras de tres músculos (*Triceps brachii*, *Semitendinosus* e *Infraespinatus*) de 8 novillos Angus provistos por la Chacra Experimental Integrada Chascomus (CEICH) M.A.A.-INTA) y de 5 Brahman de la cabaña Don José (Virasoro, Corrientes), todas recolectadas hasta 2 hs *postmortem* y conservadas en nitrógeno líquido. La cuantificación relativa (expresada como Rq) de la expresión de las distintas isoformas de ARNm de CAST se realizará mediante RT-qPCR en un *StepOne™ Real-Time PCR System*, utilizando *syber green* como sistema de detección. Para la normalización de la expresión génica se probarán cuatro genes de referencia o de expresión constitutiva (*housekeeping*): (Rplp0 (*Ribosomal protein large P0*), ACTB (*Actin Beta*), Btf3 (*Basic transcription factor 3*) y SDHA (*Succinate Dehydrogenase Complex, subunit A*), los cuales fueron seleccionados teniendo en cuenta que su expresión no estuviera afectada por el tratamiento bajo estudio. Los resultados serán analizados a través de análisis de varianza y Análisis de Componentes Principales (ACP). Este proyecto puede contribuir a ampliar el conocimiento de la base molecular subyacente a la variabilidad en la terneza de la carne bovina, tratando de establecer si tal variación se debe a diferencias en la expresión de CAST atribuibles a mecanismos de poliadenilación alternativa.

## DUPLEX PCR PARA LA IDENTIFICACIÓN DEL GÉNERO *BRUCELLA* Y LA DIFERENCIACIÓN DE LAS ESPECIES *B. ABORTUS* Y *B. MELITENSIS*

Castaño Zubieta, R<sup>1\*</sup>; Trangoni, M<sup>2\*</sup>; Cravero, S<sup>2</sup>; Rossetti, C<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Patobiología, <sup>2</sup> Instituto de Biotecnología, CICVyA-CNIA, INTA. Nicolás Repetto y de Los Reseros s/n, Hurlingham, Buenos Aires, Argentina.

\*Estos autores contribuyeron equitativamente al desarrollo del trabajo

La brucelosis es una enfermedad bacteriana zoonótica distribuida mundialmente. El género *Brucella* infecta a la mayoría de las especies de animales domésticos y a los seres humanos. Actualmente se conocen 11 especies que pueden parcialmente diferenciarse por sus características bioquímicas pero su determinación puede demorar varios días. El método de amplificación de ácidos nucleicos utilizando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) permite detectar la presencia de ADN en muestras biológicas de manera rápida, sensible y específica. El objetivo de este trabajo fue desarrollar un método molecular rápido que permita identificar la presencia de material genético específico del género *Brucella*, y simultáneamente diferenciar las especies *B. abortus* y *B. melitensis* en la misma reacción. Para ello, se obtuvieron y compararon las secuencias genómicas de *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*, *B. canis* y *B. ovis* utilizando los programas Artemis Comparison Tool (ACT) y BLAST. El análisis bioinformático de los genomas permitió la identificación de regiones exclusivas del género para las especies *B. abortus* y *B. melitensis*. Los iniciadores se diseñaron utilizando el programa Primer3. Como templado se utilizó material genético de 7 cepas de referencia, obtenido por hervor de una suspensión bacteriana en agua. Los productos de amplificación se analizaron mediante electroforesis en geles de agarosa 1,5%. Los resultados obtenidos mostraron la amplificación de regiones específicas para el género *Brucella*, y para las especies *B. abortus* y *B. melitensis*. Se estableció un patrón diferencial de bandas con la siguiente distribución; 264 y 1200 bp para *B. abortus* (salvaje S2308 y vacunal S19), 670 bp para *B. melitensis* (salvaje 16M y vacunal Rev.1), y una única banda de 1200 bp para *B. suis*, *B. ovis* y *B. canis*. Los resultados obtenidos muestran que la metodología propuesta es apta para lograr un resultado rápido y semi-cualitativo en explotaciones pecuarias familiares donde conviven varias especies de animales domésticos, con cuadros clínicos compatibles con brucelosis.

## DETECCIÓN DE *ECHINOCOCCUS GRANULOSUS* POR PCR EN HOSPEDADORES DEFINITIVOS EN EL PARAJE CAPITA MINI, MERCEDES, CORRIENTES

Castaño Zubieta, R<sup>1</sup>; Sarmiento, N<sup>2</sup>

1- Instituto de Patobiología, CICVyA-CNIA, INTA. Nicolás Repetto y de Los Reseros s/n, Hurlingham, Buenos Aires, Argentina. 2 INTA EEA Mercedes, Corrientes, Argentina.

La hidatidosis/echinococcosis es una enfermedad zoonótica causada por el cestode *Echinococcus granulosus*. Esta enfermedad es endémica en Argentina, presentando territorios hiperendémicos a lo largo del país. La presencia de *E. granulosus* en estas regiones está asociada a prácticas de faena domiciliaria en las cuales los perros son alimentados con vísceras infectadas de los hospedadores intermediarios, siendo los perros los responsables de la diseminación de las oncósferas infectivas al medio ambiente a través de la materia fecal. Los métodos utilizados para determinar la presencia de *E. granulosus* en materia fecal son eficaces pero cuentan con algunas desventajas, en el caso de la purga con bromhidrato de arecolina resulta en una liberación abrupta de formas infectivas. Respecto a la técnica de ELISA para determinación de coproantígenos, su optimización es laboriosa y requiere gran experticia en este proceso. La técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) se caracteriza por ser segura, específica y posibilita la detección de ADN del parásito en las heces. El objetivo de este estudio fue la optimización de una técnica de PCR para la detección de *E. granulosus* en perros y la posterior evaluación de muestras de materia fecal de perros obtenidas en el paraje Capita Mini de Mercedes, provincia de Corrientes. Se utilizaron muestras de materia fecal de 18 perros obtenidas previamente en una playa de arecolina. Como control negativo se empleó materia fecal de 3 perros que fueron alimentados toda su vida con alimento balanceado. Como control positivo en la reacción de PCR se utilizó ADN de *E. granulosus* G1 purificado con la técnica de fenol- cloroformo. Para la extracción de ADN de las muestras de materia fecal se utilizó un kit comercial. Los oligos iniciadores utilizados fueron EgO/DNA-IM1 que amplifican ADN mitocondrial codificante para la Cox I descritos por Cabrera y col. (2002). Los productos de amplificación se analizaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 1,5%. Se logró optimizar el perfil térmico de ciclado y las concentraciones óptimas de los oligos iniciadores. Se determinó la sensibilidad diagnóstica del método para este ensayo. De los animales analizados 16,6% fueron positivos a la prueba arecolina y 33,3% resultaron positivos a la PCR. El método de PCR resultó rápido, robusto y seguro. La detección de *E. granulosus* en perros es importante como método de vigilancia epidemiológica y la evaluación de programas de control. Esta herramienta podría utilizarse para la confirmación de muestras positivas a la prueba de coproantígenos.

## **COMPARACIÓN DE LA PERSISTENCIA AMBIENTAL DE LARVAS MUSCULARES DE *TRICHINELLA SPIRALIS*, *T. PATAGONIENSIS* Y *T. PSEUDOSPIRALIS* EN CARNE DE JABALÍ *SUS SCROFA* EXPUESTA A DIFERENTES CONDICIONES**

Castelo, E<sup>1</sup>; Fariña, F<sup>1,2</sup>; Ribicich, M<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Parasitología y Enfermedades Parasitarias.

<sup>2</sup>Universidad de Buenos Aires - CONICET, Facultad de Ciencias Veterinarias, Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA).

La transmisión de *Trichinella* spp. en la naturaleza depende entre otras cosas, de la capacidad de las larvas de tolerar las condiciones ambientales cuando el hospedador muere. Es por ello que resulta imperioso estudiar la capacidad de las larvas de *T. spiralis*, *T. patagoniensis* y *T. pseudospiralis* de sobrevivir en la musculatura de un hospedador perteneciente al ciclo silvestre (*Sus scrofa*) expuesta a diferentes condiciones térmicas. El objetivo del presente trabajo es determinar la capacidad infectante de la carne de jabalí con *Trichinella patagoniensis*, *pseudospiralis* y *spiralis*. Se utilizarán muestras de tejidos musculares extraídos post-mortem de jabalíes infectados experimentalmente con las distintas especies de *Trichinella* spp. Al azar, se colocarán sobre la superficie de tierra contenida en cajas plásticas y se expondrán a diferentes condiciones de temperatura y humedad. Para obtener y cuantificar las larvas de *T. patagoniensis*, *T. pseudospiralis* y *T. spiralis* se utilizará la técnica de digestión artificial (DAR). Se realizará el conteo tomando una alícuota de 50 µl del producto obtenido por DAR entre porta y cubre, contando la totalidad de las larvas en un microscopio óptico con un aumento de 10 X. Las larvas recuperadas post tratamiento ambiental y térmico se inocularán por vía oral en ratones machos BALB/c de 20 g. A las 6 semanas se realizará la eutanasia y posterior digestión artificial de los ratones. Luego de realizar el conteo de larvas se calculará el índice de capacidad reproductiva (RCI) para comprobar la viabilidad de las larvas obtenidas.

El presente trabajo es financiado por los proyectos PICT 2013 – 0965 y 20020130100336BA.

## ANÁLISIS DE SUSTENTABILIDAD DE PEQUEÑOS PRODUCTORES FAMILIARES OVINOS Y CAPRINOS

<sup>1-3</sup>Chevasco, A; <sup>1-2</sup>Vallone, C; <sup>1-3</sup>Sahda, M; <sup>1-2</sup>Biolatto, R; <sup>1-2</sup>Vallone, R.

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Veterinarias. U.N.R.<sup>2</sup>Centro Latinoamericano de Estudios de Problemáticas Lecheras.<sup>3</sup> Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. [carla.vallone@unr.edu.ar](mailto:carla.vallone@unr.edu.ar)

FAO proyecta a la Agricultura Familiar como un modelo productivo abastecedor de alimentos, conocer sus características en territorio permite orientar políticas de desarrollo. El objetivo consistió en caracterizar a los productores bajo el paradigma de sustentabilidad. El estudio se llevó a cabo en el periodo 2016-2017. Los datos se relevaron mediante entrevistas semiestructuradas a treinta productores, definiendo indicadores representativos en dos aspectos (1) socio-ambiental (1-Composición y características del grupo familiar 2-Distribución de las tareas 3-Trabajo extra predial 4-Posibilidad de sucesión 5-Acceso a la educación y 6-Acceso a la salud) y (2) económico-productivo (1-Superficie de la explotación 2-Régimen de tenencia 3-Diversificación de la producción y 4-Asesoramiento técnico). En el aspecto socio-ambiental, el 67% (20/30) de los grupos familiares se compone del productor y/o su pareja, con una edad superior a 39 años. El 33% (10/30) restante de la pareja y sus hijos. Todos participan en las actividades productivas. El 43% (13/30) no presenta trabajo extra predial, el resto sí, ya sea en forma permanente o discontinua. La posibilidad de sucesión es baja, los jóvenes no la visibilizan como una salida laboral posible. El acceso a la educación es representativo en el 33% (10/30) de las familias con hijos pequeños o adolescentes. En cuatro de ellas se encuentran adolescentes cursando sus estudios universitarios, siete familias presentan adolescentes en el nivel secundario y en todas las familias con hijos hay niños cursando el nivel primario. El acceso a la salud es aceptable, el 93% (28/30) de los productores se ubica cerca de salas de primeros auxilios, sólo el 7 % (2/30) presenta limitado el acceso a la salud a causa de su ubicación geográfica. El 70% (21/30) de los mismos cuenta con obra social. En el aspecto económico-productivo, la superficie explotada en el 73% (22/30) de los establecimientos oscila entre media y 50 hectáreas, en el 10 % (3/30) entre 50 a 100 hectáreas y solo el 17% (5/30) cuenta con más de 100 hectáreas, de los cuales uno alquila 200 hectáreas. Excepto dos productores todos son propietarios de su casa. En cuanto a la diversificación de la producción el 63% (19/30) produce Ovinos y caprinos, el 20% (6/30) solo Ovinos y el 17% (5/30) solo caprinos, todos combinan con agricultura u otra producción animal. Solo el 20% (6/30) de los productores recibe asesoramiento técnico de privados o técnicos de la Secretaria de Agricultura Familiar. Concluimos que este tipo de producciones contribuye a garantizar la seguridad y soberanía alimentaria local y queda evidenciada la necesidad de políticas públicas que estimulen su permanencia en el territorio.

## CARACTERIZACIÓN DE PEQUEÑOS PRODUCTORES OVINOS Y CAPRINOS DEL CENTRO NORTE DE SANTA FE Y ENTRE RÍOS

<sup>1-3</sup> Chevasco, A; <sup>1-2</sup> Vallone, C; <sup>1-3</sup> Sahda, M; <sup>1-2</sup> Biolatto, R; <sup>1-2</sup> Vallone, R

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Veterinarias. U.N.R. <sup>2</sup>Centro Latinoamericano de Estudios de Problemáticas Lecheras. <sup>3</sup>Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. [carla.vallone@unr.edu.ar](mailto:carla.vallone@unr.edu.ar)

Este estudio surge de la necesidad de contar con datos actualizados sobre pequeños productores familiares ovinos y caprinos con el objetivo de caracterizarlos. La información obtenida servirá de sustrato para articular diferentes instituciones del estado. El estudio se llevó a cabo en el periodo 2016-2017 a partir de un trabajo interinstitucional. Los datos se relevaron mediante entrevistas semiestructuradas. La metodología empleada fue cualitativa permitiendo una caracterización general. Se identificaron treinta productores familiares. Se elaboró una descripción general de los actores sociales. Se analizaron las diferentes estrategias utilizadas para persistir en el territorio, las características particulares de la explotación de pequeños rumiantes y su posibilidad de prosecución. Las explotaciones analizadas son de mediana a baja escala y de tipo familiar. En todos los casos la familia se compone del productor y/o su pareja, presentando una edad superior a 39 años, diez de las cuales tienen hijos en diferentes grados de escolarización, siendo muy bueno el acceso a la educación. Aunque la mayor responsabilidad recae en el padre de familia, todos residen y trabajan en la explotación. Las generaciones más jóvenes están comprometidas con la actividad pero no la ven como un medio de subsistencia a futuro. Esto se evidencia en las estrategias de subsistencia empleadas como ser el bajo nivel de inversión, diversificación productiva, bajo nivel de utilización de insumos externos y minimización de gastos, lo que permite que se mantengan pero sin posibilidad de crecimiento o sucesión, condicionando su prosecución. En cuanto a la diversificación de la producción podemos clasificarlas en producción ovina, caprina y de ambas especies, las cuales representan a la mayoría. En todos los casos se realiza agricultura u otra producción animal que garantice producir alimentos para autoconsumo. El hecho de que sean producciones a baja y mediana escala hace que no consideren como una posibilidad el acceso al asesoramiento técnico, solo se acude para urgencias o necesidades puntuales. También condiciona otros aspectos productivos como ser el tipo de alimentación con predominio de pasturas naturales, el plan sanitario incompleto, el predominio de servicio continuo, la falta de registros y el número de animales variable, desde 5 a más de 150 cabezas. Son escasos los productores que suplementan e implantan pasturas. Las medidas sanitarias que se realizan según las posibilidades son desparasitaciones dos veces al año, vacunación y aplicación de complejos vitamínicos y minerales. El estímulo de estas producciones mediante políticas de estado impactaría directamente en el desarrollo territorial.

## ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO DEL GRADO DE LESIÓN EN HÍGADO DE RATONES BALB/C VACUNADOS Y DESAFIADOS CON MYCOBACTERIUM AVIUM. SUBSP. PARATUBERCULOSIS

Colombatti Olivieri, MA<sup>1</sup>; Moreno, C<sup>2</sup>; Delgado, F<sup>2</sup>, Romano, MI<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Biotecnología, INTA Castelar, Buenos Aires

<sup>2</sup> Instituto de Patobiología, INTA Castelar, Buenos Aires

La paratuberculosis bovina es una enfermedad crónica causada por *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (Map). Considerando las pérdidas económicas que causa, es necesario controlar la enfermedad y desarrollar una vacuna efectiva. Los ratones BALB/c son el modelo experimental de elección para la selección inicial de vacunas candidatas. El objetivo del presente trabajo es evaluar la protección conferida, en el modelo murino por las diferentes estrategias vacunales, mediante el análisis histopatológico del hígado. Para ello se utilizaron 5 grupos de 15 ratones hembras BALB/c de 7 semanas de edad: A) control no vacunado, B) 2 dosis de vacuna comercial Silirum<sup>®</sup>, C) 2 dosis de cepa local inactivada, D) 2 dosis de cepa local inactivada con un refuerzo de virus Vaccinia recombinante Ankara que expresa el antígeno 85A de *M. bovis* (MVA85A) y E) dosis única de la cepa local inactivada más el refuerzo de MVA85A. Se preparó el inóculo de la cepa local 6611 (virulenta para ratones) mediante la eliminación de aglomerados bacterianos con pasajes de aguja 25G, se inactivó por calor y se llevó a una concentración de 2,5 mg de pellet seco/ml con adyuvante incompleto de Freund. Se administraron subcutáneamente 0,2 ml de la vacuna Silirum<sup>®</sup> o de la cepa local y se administró MVA85A intraperitonealmente a una concentración de  $5,6 \times 10^5$  UFP/ml. Las dosis se administraron con una diferencia de 15 días. Un mes después de la última dosis de la vacuna, se procedió al desafío con una cepa virulenta a una concentración de  $1 \times 10^8$  UFC/ratón por vía intraperitoneal. A las 6 y 12 semanas post-desafío se sacrificaron los animales y se tomó el hígado para histopatología. Se determinó el grado de lesión o *score* analizando la presencia, distribución, número, tamaño y tipo de lesiones de los cortes histológicos teñidos con hematoxilina/eosina, y la presencia de bacilos ácido-alcohol resistentes (BAAR) y porcentaje de lesiones con BAAR en los preparados teñidos con Ziehl Neelsen. Se observaron principalmente lesiones del tipo granulomatosas en todos los grupos. El grupo sin vacunar tuvo un mayor *score* que el resto de los grupos en ambos tiempos: encontrando diferencias significativas del grupo sin vacunar con el resto de los grupos a las 6 spd ( $p < 0,05$ ). A las 12 spd se encontraron diferencias entre el control y todos los grupos que recibieron la cepa local 6611 con o sin *boost* ( $p < 0,01$ ). Las diferencias observadas tuvieron origen en el mayor número de lesiones y porcentaje de lesiones con BAAR en el grupo sin vacunar. El grupo Silirum<sup>®</sup> no tuvo diferencias a las 12 spd porque en ese tiempo persistieron las lesiones con BAAR. En conclusión, la cepa local 6611 podría ser un mejor candidato vacunal que Silirum<sup>®</sup> porque fue el único que logró reducir significativamente el grado de lesión a ambos tiempos post-desafío.



## CALIDAD DE AGUA EN UNIDADES DE CRIANZA DE TERNERAS EN TAMBOS DEL OESTE DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES

Cosenza, A<sup>1</sup>; González Pereyra, AV<sup>1</sup>; Volpe, SM<sup>1</sup>; Demateis, F<sup>2</sup>; Herrero, M.A.<sup>1</sup> –

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Bases Agrícolas. Buenos Aires, Argentina - <sup>2</sup> INTA.

El agua es considerada un nutriente esencial para el ganado lechero. Dentro del organismo cumple numerosas funciones fisiológicas y en un ternero neonato representa hasta el 86% del peso corporal. Diversos estudios han demostrado que las terneras de reposición, a las cuales se les ofrece agua de calidad a voluntad, incrementan el consumo de alimento sólido con los beneficios que ésto implica en su crecimiento, salud y desarrollo ruminal. El objetivo de este estudio preliminar fue establecer la calidad de agua en unidades de crianza de tambos del oeste de la provincia de Buenos Aires. El agua era ofrecida ad-libitum entre los 2 y 7 días de edad y en ningún caso se suministraba sustituto lácteo. Se recolectaron muestras duplicadas de agua de quince (15) unidades de crianza, siguiendo la metodología de referencia. Se determinaron los siguientes parámetros: sólidos totales (por conductividad), dureza y arsénico ( $\text{As}^{3+/5+}$ ) (por colorimetría), carbonatos, bicarbonatos ( $\text{HCO}_3^-$ ), magnesio ( $\text{Mg}^{+2}$ ) y sodio ( $\text{Na}^+$ ) (por titulación), sulfatos y cloruros ( $\text{Cl}^-$ ) (por espectrofotometría), calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) y nitratos ( $\text{NO}_3^-$ ), por reflectometría. Los valores obtenidos se expresaron en mg/L, excepto dureza que se expresó en mg de  $\text{CaCO}_3/\text{L}$ . Se realizaron análisis estadísticos descriptivos y se interpretaron los resultados según los límites que determinan la aptitud para consumo en terneros. Los valores pH estuvieron en un rango de 7,3 a 8,1. La mediana para dureza fue 534,0 mg de  $\text{CaCO}_3/\text{L}$  (71,2-890,0 mg de  $\text{CaCO}_3/\text{L}$ ). Los valores medianos de sulfatos y cloruros fueron de 98,0 mg/L (11,2- 1312,0 mg/L) y 500 mg/L (8- 1506 mg/L) respectivamente. En el caso del  $\text{Na}^+$ , la mediana de los resultados fue de 594 mg/L (90-1597 mg/L) y de nitratos fue de 49 mg/L (5- 168 mg/L). Por último, el arsénico tuvo valores de 0,02 mg/L (0,00-0,03 mg/L). En el 73,3% de las muestras se superan los valores aceptables de sólidos totales y en el 93% los valores de sodio. En 8 de los 15 tambos (53%), los valores de nitratos superaban los valores aceptables para animales de esta categoría. La mayoría de las muestras (67%) tenían valores de dureza superiores al valor recomendado. Sólo en un 20%, los valores de sulfatos representaban un problema para la aptitud de bebida. En el caso del arsénico, ninguna muestra superó los límites establecidos. Considerando todos los parámetros de manera conjunta, se determinó que las muestras no son aptas para consumo en unidades de crianza. Sólo un establecimiento, tiene un único valor limitante, ya que excede el límite aceptable para nitratos. Los valores de sólidos totales y sodio y la presencia de nitratos en las muestras, serían aquellos parámetros más limitantes en el uso de agua para suministrar a terneras de reposición. Los problemas de salud podrían ser mayores en caso de utilizar el agua para la preparación de sustituto lácteo.

## **MASTITIS BOVINA: RESISTENCIA FENOTÍPICA FRENTE A BETALACTÁMICOS, MACRÓLIDOS Y LINCOSAMIDAS EN ESTREPTOCOCOS (COMUNICACIÓN PRELIMINAR)**

Crespi, E; Srednik, ME; Gentilini ER.

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias. Microbiología  
Subsidio UBACyT 313BA

La mastitis bovina es una enfermedad de distribución mundial que afecta la salud de los animales con la consecuente disminución de la producción, calidad de leche y subproductos, repercutiendo negativamente en la industria lechera. En mastitis bovina los cocos grampositivos constituyen un grupo bacteriano con alta frecuencia de aislamientos y algunas especies, son importantes por la habilidad de adquirir resistencia (R) frente a los antimicrobianos (ATM) de uso habitual en la terapéutica antimastítica: betalactámicos y macrólidos-lincosamidas (ML). Dentro de los cocos catalasa positivos, *Staphylococcus aureus* patógeno por excelencia, y los estafilococos coagulasa negativos, un grupo emergente de importancia por ser reservorios de genes de R a ATM. Dentro de los cocos catalasa negativos, *Streptococcus agalactiae* el patógeno principal y más frecuente, otros estreptococos ambientales (*S. dysgalactiae* y *S. uberis*). La R a penicilina (PEN) se debe principalmente a la expresión de betalactamasas. La R a eritromicina (ERY) y clindamicina (CLI), denominada fenotipo MLS, puede darse por modificación del sitio diana (fenotipo MLSi o MLSc), por bombas de eflujo (fenotipo M) o por enzimas inactivantes (fenotipo L). El conocimiento de los mecanismos de R en las bacterias, es necesario para poder predecir su evolución. Durante Marzo 2016 - Marzo 2017 se analizaron n=78 muestras de leche de vacas con mastitis provenientes de diferentes tambos de la Provincia de Buenos Aires. Para el aislamiento microbiano, se sembraron 10 µl de cada muestra en agar sangre, incubando durante 48 hs a 37°C. Se realizó la identificación de estreptococos, realizando las pruebas: tinción de Gram, catalasa, BE, crecimiento en CINa 6,5% y en CINa 4%, PYR, FA, prueba de CAMP, entre otras. Se determinó la susceptibilidad a los ATM por el método de Kirby-Bauer, según el CLSI (2013), utilizando para los estreptococos discos de PEN (10UI), ERY (15µg), CLI (2µg). Para ver la expresión de los mecanismos de R a ML, se determinó con la prueba de doble disco. Se aislaron e identificaron 134 cocos grampositivos: 16,5% (n=22) fueron identificados como estreptococos: 9% (n=2) fueron R a Pen, 4,5% (n=1) fueron R a ERY y 9% (n=2) R a CLI. 1 aislamiento presentó fenotipo MLSc y otro fenotipo L. Se detectaron aislamientos de estreptococos con R a PEN y a ML con diferentes fenotipos de R. Es importante destacar el hallazgo de R por enzimas inactivantes en estreptococos. La correcta identificación y el monitoreo continuo de R a ATM es esencial para comprender la participación de los cocos grampositivos en las infecciones intramamarias, y tomar decisiones apropiadas para la terapéutica y el manejo de las vacas en ordeño. Las bacterias presentan una considerable plasticidad genómica pudiendo continuar evolucionando, en su capacidad de inducir patogenicidad.

## EFFECTO DE LA L-CARNITINA SOBRE LOS PARÁMETROS DE FECUNDACIÓN *IN VITRO* EN PORCINOS

Cruzans, PR; Lorenzo, MS; Teplitz, GM; Lombardo, DM

Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA). Cátedra de Histología y Embriología.

La L-carnitina (LC) desempeña un papel importante en el catabolismo de los lípidos y como antioxidante. Anteriormente concluimos que bajas concentraciones de LC en el medio de maduración *in vitro* disminuye el nivel intracelular de especies reactivas de oxígeno y la cantidad intracelular de lípidos de los ovocitos porcinos respecto al control, sin afectar el porcentaje de maduración nuclear. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto del agregado de distintas concentraciones de LC al medio de maduración *in vitro* sobre los parámetros de fecundación *in vitro* en porcinos. Los complejos *cumulus*-ovocito (COC) se obtuvieron por aspiración folicular de ovarios de cerdas de faena. Los COC se maduraron *in vitro* sin LC (control) o con distintas concentraciones de LC (0,6 y 1,25 mg/mL) en el medio de maduración (TCM-199 suplementado) por 44 h a 39°C y 5% de CO<sub>2</sub>. Luego, los ovocitos se desnudaron y se coincubaron con semen fresco (1x10<sup>6</sup> espermatozoides/mL) por 6 h. Los espermatozoides se removieron por vortex y los presuntos cigotos se incubaron durante 12 h en medio SOF a 39°C, atmósfera saturada de humedad y 5% de CO<sub>2</sub>. Para determinar la maduración citoplasmática, se centrifugaron 30 min a 2000 rpm, se fijaron y se tiñeron con Hoechst 33342, cuantificando los porcentajes de penetración espermática, de formación de pronúcleo masculino (PN), de penetración monospérmica y de eficiencia (monospérmicos / total de ovocitos maduros) (control: n = 165; LC 0,6: n = 134; LC 1,25: n = 128). Se consideraron penetrados cuando tenían al menos un espermatozoide con cabeza descondensada o dos PN y se consideraron monospérmicos cuando tenían un solo espermatozoide con cabeza descondensada o dos PN. Los presuntos cigotos se observaron con microscopio de fluorescencia Leica DM4000B. Se realizó una prueba de homogeneidad (de chi cuadrado) y se consideró una diferencia estadísticamente significativa si  $p \leq 0,05$ . No se detectaron diferencias significativas en los porcentajes de penetración espermática (control = 55,76%; LC 0,6 = 48,51%; LC 1,25 = 46,09%), de formación de PN (control = 66,3%; LC 0,6 = 53,85%; LC 1,25 = 54,24%), de penetración monospérmica (control = 34,78%; LC 0,6 = 40%; LC 1,25 = 33,9%) y de eficiencia (control = 19,39%; LC 0,6 = 19,4%; LC 1,25 = 15,63%) entre los distintos grupos. La LC no posee ningún efecto sobre los parámetros de fecundación *in vitro* comparado con el control. Posteriormente se evaluará el efecto de la LC sobre el desarrollo embrionario y sobre la tolerancia a la vitrificación de los ovocitos maduros.

## AISLAMIENTO Y GENOTIPIFICACIÓN DE MICOBACTERIAS EN LESIONES TUBERCULOSAS DE CERDOS EN FRIGORÍFICO

Cuerda, MX<sup>1</sup>; Marfil, MJ<sup>1, 2</sup>; Martinez Vivot, M<sup>2</sup>; Zumárraga, M<sup>1</sup>; Romano, MI<sup>1</sup>; Santangelo, MP<sup>1</sup>; Barandiaran, S<sup>2</sup>

<sup>1</sup>INTA. Instituto de Biotecnología. Hurlingham. Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Enfermedades Infecciosas. Buenos Aires, Argentina

La tuberculosis (TB) es una enfermedad infecto-contagiosa de curso crónico, producida por bacterias del género *Mycobacterium*. En el cerdo, la TB es producida principalmente por *M. bovis*, pero también son susceptibles a micobacterias del complejo *Mycobacterium avium* (MAC), pudiendo existir además co-infección. La prevalencia de TBC en Argentina es del 0,2 %, y se estima mediante la observación directa de lesiones compatibles con tuberculosis (LCT) en las plantas frigoríficas, siendo el cultivo bacteriológico el *gold estándar* del diagnóstico de certeza de la TB. El objetivo de este trabajo fue identificar las micobacterias presentes en LCT y caracterizarlas a partir de los aislamientos obtenidos. Se realizaron visitas a frigoríficos porcinos de la localidad de Moreno, donde se recolectaron muestras de órganos con LCT (n=20) y linfonódulos retrofaríngeos y submaxilares de animales que no presentaron LCT (n=30) durante la inspección bromatológica. Las muestras se decontaminaron mediante el método de Petroff, y se cultivaron en los medios de Lowenstein-Jensen (LJ) y Stonebrink (ST), con glicerol y piruvato respectivamente, incubándose durante 60 días a 37°C. Los aislamientos se identificaron molecularmente mediante PCR *IS6110* para la identificación del complejo *Mycobacterium tuberculosis* seguida de Spoligotyping para la identificación de la especie y subtipificación. Cuando se sospechó de micobacterias no tuberculosas se amplificó la secuencia de inserción *IS1245* presente en *M. avium* seguida de *IS901* la cual permite diferenciar *M. avium* subsp. *avium* de *M. avium* subsp. *hominissuis*. Se obtuvieron 17 aislamientos positivos de las 20 muestras con LCT. De dichos aislamientos, 2 crecieron en medio LJ, uno de los cuales también lo hizo en ST. El resto presentó crecimiento sólo en medio ST. Ninguna de las muestras de animales sin LCT desarrolló en los medios de cultivo. Por PCR se determinó que todos los aislamientos desarrollados en el medio ST, fueron *IS6110+*, mientras que las muestras que crecieron en LJ fueron tanto *IS1245+* como *IS901+*. Por la técnica de Spoligotyping se determinó que todas las cepas *IS6110+* pertenecían a la especie *M. bovis*, detectándose 6 patrones diferentes. El de mayor frecuencia fue el spol 34 (62,5%). Esta tendencia es la misma que se observa en los aislamientos de *M. bovis* de bovinos. Además, la totalidad de los spoligotipos encontrados en los cerdos fueron previamente descritos en bovinos. A partir de los resultados obtenidos se observa una recuperación del 85% en las muestras con LCT y del 0% en muestras sin LCT. De esta manera se puede reforzar la importancia de la inspección bromatológica en los frigoríficos. Por otra parte, observamos la mayor prevalencia de *M. bovis* (17/20) en relación a *M. avium* (2/20), datos que respaldan los antecedentes de la enfermedad en cerdos en la Argentina. A su vez, al tratarse de spoligotipos ya identificados en bovinos, indicaría una activa transmisión de *M. bovis* entre estas dos especies de animales.

## ESTUDIO CLONAL Y PERFIL DE VIRULENCIA DE AISLAMIENTOS DE *ESCHERICHIA COLI* PRODUCTORES DE TOXINA SHIGA PERTENECIENTES AL SEROGRUPO O174

Cundon, C; Bentancor, A

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Microbiología. Buenos Aires, Argentina.

*Escherichia coli* shigatoxigénico (STEC) es el principal agente etiológico del síndrome urémico hemolítico. Se caracteriza por la producción de toxina Shiga, entre otros factores de virulencia. El serogrupo O174 se destaca como problemática en Argentina. Es el cuarto en prevalencia dentro del grupo STEC no-O157 y no es considerado por estándares europeos o americanos en la vigilancia de alimentos. El objetivo del trabajo fue caracterizar la relación clonal y el perfil genético de cepas de circulación regional pertenecientes a este serogrupo. Se recolectaron 30 cepas STEC O174:H21 y 11 O174:H28 de distintas fuentes (alimento, animal y humanos), origen (CABA, Buenos Aires y Uruguay) y años (1995-2012). Mediante PFGE se determinó la relación clonal de las cepas. Por PCR se subtipificó la toxina Shiga y se determinó la presencia de factores de virulencia adicionales: cuatro toxinas (*astA*, *cdtV*, *ehxA*, y *subA*), seis adhesinas afimbriales (*afaC*, *iha*, *saa* y *toxB*), tres adhesinas fimbriales (*ecpA*, *hcpA* y *lpfO<sub>113</sub>*) y dos proteasas (*espP* y *katP*). La relación clonal de 34 STEC O174 fue del 64,01% de similitud con *Xba*I. Se designaron 29 patrones de corte para la enzima de restricción y se observaron 3 grupos de cepas con 100% de similitud (clusters A –n:2-, B –n:4- y C –n:2-). En siete cepas no se detectó patrón de corte por degradación incluso con tiourea. El cluster A estaba conformado por dos cepas aisladas de casos clínicos humanos cuyo perfil de virulencia fue *stx<sub>2c</sub>/afaC/lpfO<sub>113</sub>/ecpA* pero uno de ellos resultó *iha*-positivo. El perfil *iha*-negativo fue compartido con una cepa aislada de animal y el perfil *iha*-positivo con una cepa aislada de animal y una de alimento. Esta última, perteneció al serotipo O174:H21 y conformó el cluster C junto con otra cepa de alimento del serotipo O174:H28 y con el perfil de virulencia *stx<sub>2a</sub>/stx<sub>2c</sub>/afaC/ecpA/ehxA/iha/lpfO<sub>113</sub>/saa/subA*. El cluster B estaba conformado por cuatro cepas aisladas de animales cuyo perfil de virulencia fue *stx<sub>2c</sub>/afaC/iha/lpfO<sub>113</sub>*. Este perfil fue compartido por tres cepas aisladas de animales y una cepa de alimento. En total, se determinaron 16 perfiles de virulencia para el serotipo O174:H21, el más prevalente fue *stx<sub>2c</sub>/afaC/iha/lpfO<sub>113</sub>*. En el serotipo O174:H28 se determinaron 9 perfiles de virulencia siendo los más prevalentes *stx<sub>2a</sub>/afaC/ehxA/iha/lpfO<sub>113</sub>/saa/subA*, integrado por una cepa de origen animal y una de un caso clínico humano y *stx<sub>2a</sub>/afaC/ecpA/ehxA/espP/iha/lpfO<sub>113</sub>/saa/subA* conformado por una cepa aislada de alimento y una de animal. La escasa similitud clonal y la variabilidad de los perfiles de virulencia del serogrupo, indican la diversidad de clones circulantes y la heterogeneidad del mismo. Sin embargo, a pesar de las diferencias en los perfiles de virulencia, se observó una fuerte relación entre aislamientos provenientes de una misma fuente y un cluster en particular. Debido a su carácter de patógeno emergente en Argentina, el serogrupo O174 requiere una continua vigilancia epidemiológica y el control de sus posibles reservorios debido al riesgo potencial que representa a la salud pública.

## **ULTRAMORFOLOGÍA DEL ESMALTE DE DIENTES PERMANENTES DE PERRO**

De Puch, G; Hernández, SZ; Negro, VB

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Cirugía. Buenos Aires, Argentina.

El esmalte es la sustancia más dura y mineralizada del organismo, siendo uno de los elementos constituyentes del diente, junto con el cemento, la dentina y la pulpa. Es un tejido muy resistente y quebradizo que conforma una capa muy delgada que se apoya en el tejido subyacente -la dentina- a la que protege. En los mamíferos está constituido en un 90% por cristales de hidroxapatita formando “prismas” y la sustancia interprismática que los rodea. Los prismas varían su forma según la especie y discurren desde la unión esmalte-dentina (UED) hacia la superficie de la corona, organizándose en algunos casos en forma paralela formando Bandas de Hunter-Schreger (BHS) y, en otros, de manera entrecruzada (esmalte nodoso). En el perro existe escasa información al respecto, por lo que el objetivo de este trabajo fue determinar la ultramorfología del esmalte en el perro mediante microscopía electrónica de barrido (MEB). El estudio se llevó a cabo sobre 24 dientes permanentes sanos provenientes de dos perros adultos jóvenes menores de 2 años de edad, sacrificados por razones humanitarias. Una vez realizada la exodoncia por técnicas convencionales, los dientes se seccionaron con disco de diamante y turbina dental. Se les grabó la superficie seccionada con ácido fosfórico con el fin de revelar la estructura prismática y se procesaron para ser observados con el MEB. Se obtuvieron microfotografías de las regiones de interés y mediante un software específico (Image Tool®) se midió el espesor de los prismas en diferentes sitios del esmalte. Se observó que los prismas presentan forma hexagonal, espesor medio de 4,4  $\mu\text{m}$ , siendo más angostos cerca de la UED, terminando en la superficie de la corona de manera difusa, dando origen a una capa superficial de esmalte aprismático. Se encontraron sectores con BHS y sectores de esmalte nodoso. Se concluye que el espesor de los prismas del esmalte del perro no varía según tipo de diente ni sector de la corona, exceptuando en las cúspides donde fue más angosto. Además, se evidenció que el espesor de los prismas no fue uniforme, sino que aumentó a lo largo de su recorrido desde la UED hacia la superficie de la corona. La organización prismática observada fue similar a la informada en estudios previos del esmalte del perro.

## **LOS ANIMALES DE COMPAÑÍA EN POBLACIONES DE BAJOS RECURSOS: UNA PROPUESTA DE TRABAJO CONJUNTA**

Del Vecchio, L; Compiano, A; Durrieu, L; Lopez, C; Sommerfelt, I.

Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Salud Pública

Los animales de compañía ejercen una influencia positiva en la salud y bienestar de los seres humanos, pero estas relaciones hombre-animal implican algunos riesgos que es necesario minimizar. En ambientes adversos estas interrelaciones pueden determinar la aparición de enfermedades zoonóticas. El riesgo de enfermarse no siempre es percibido por la población debido a múltiples factores dentro de los cuales está el desconocimiento. Conocer, es una condición necesaria para motivar una conducta de autocuidado. La comunicación es una herramienta útil para proporcionar información que sirva de base para la adopción de actitudes y prácticas favorables al cuidado de la salud. El objetivo de la propuesta es, a través de un trabajo conjunto con Cruz Roja Argentina, transmitir información sobre prácticas preventivas que promuevan el desarrollo de estilos de vida saludables, evitando las enfermedades zoonóticas y ofreciendo pautas que promuevan la salud de los animales de compañía. Esta es una propuesta de tipo social-educativo que persigue promover la salud y fortalecer las capacidades internas de un barrio de bajos recursos. Las actividades se desarrollan en tres etapas: 1) Evaluación del estado de situación a través de visitas al barrio: relevamiento de datos sobre temas relacionados a las zoonosis y a sus animales, 2) Capacitación sobre enfermedades zoonóticas a voluntarios participantes, 3) Acciones en la comunidad: a partir de aspectos específicos detectados, mediante charlas y talleres informativos dirigidas a diferentes grupos sobre pautas de prevención de enfermedades zoonóticas y sobre tenencia responsable. Hasta el presente se están desarrollando las etapas 1 y 2 conjuntamente. Las actividades se llevan a cabo en el Barrio Playón Urquiza (Villa Fraga), ubicado en la Ciudad Autónoma de Buenos Aires. En el barrio viven 3000 familias, de las cuales unas 200 son activas participantes en actividades comunitarias relacionadas con Cruz Roja. Además, colabora personal del Hospital General de Agudos “Dr. Enrique Tornu” para situaciones que involucren la salud humana y personal del Instituto de Zoonosis Luis Pasteur para la población animal en el caso de enfermedades zoonóticas. Se elaboró una encuesta para identificar problemas percibidos por los habitantes del barrio relacionados con los animales de compañía y los conocimientos sobre las zoonosis. La capacitación para voluntarios se realiza en espacios y con recursos ofrecidos por Cruz Roja Argentina, a través de encuentros donde se abordan diferentes zoonosis, con presentaciones audiovisuales y material impreso. A partir del procesamiento de los datos obtenidos de las encuestas, se seleccionarán los temas a abordar en la comunidad. Se prevé realizar la difusión de actividades por medio de las redes sociales, medios radiales e impresos (Radio Única 91,3; Revista Aquende) y folletería. La presente propuesta está en desarrollo, por lo que todavía no se han obtenido resultados que permitan establecer conclusiones, sin embargo demuestra la posibilidad de trabajo conjunto entre organizaciones oficiales y privadas para abordar temas de salud en una población vulnerable, intentando dar respuesta a problemáticas específicas de ese contexto. Se espera que la población pueda adquirir y utilizar la información proporcionada para la toma de decisiones a favor de su salud, esté informada sobre la existencia de las enfermedades zoonóticas, cómo prevenirlas y qué hacer y a dónde dirigirse en caso de ser necesario.

## COMPARACIÓN DE DOS TIEMPOS DE TINCIÓN PARA EVALUAR LA VIABILIDAD Y EL ESTADO ACROSOMAL EN ESPERMATOZOIDES DE LLAMA UTILIZANDO LA TRIPLE TINCIÓN

Di Fonzo, A<sup>1</sup>; Fumuso, F<sup>1,3</sup>; Giuliano, S<sup>2</sup>; Carretero, MI<sup>1,3</sup>

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA), <sup>1</sup>Cátedra de Teriogenología, <sup>2</sup>Cátedra de Física Biológica, Buenos Aires, Argentina.

<sup>3</sup>CONICET. Buenos Aires, Argentina.

Existen varias pruebas para evaluar simultáneamente la viabilidad y el estado acrosomal, muchas de ellas costosas requiriendo de un equipamiento no disponible para el trabajo a campo. La Triple Tinción (TT) es un procedimiento sencillo que permite evaluar dichas características utilizando microscopía óptica. Esta técnica se ha utilizado para evaluar espermatozoides de llama, utilizando un tiempo de tinción con Giemsa de 1,5 h. Sin embargo, se sugieren tiempos de tinción de 1,5 a preferentemente 24 h. El objetivo del presente trabajo fue comparar dos tiempos de tinción con Giemsa (1,5 y 24 h) en la TT para evaluar la viabilidad, el estado acrosomal y la integridad de membrana plasmática en espermatozoides de semen fresco de llama. También, se correlacionó la viabilidad obtenida por TT con la viabilidad al emplear la técnica de CFDA/PI (Diacetato de 6-carboxifluoresceína e Ioduro de Propidio). Se obtuvieron 18 eyaculados de 5 machos de llama mediante electroeyaculación bajo anestesia general. Las muestras se incubaron con colagenasa al 0,1% en medio H-TALP con la finalidad de mejorar la manipulación de las mismas. Luego, se realizaron 2 frotis con igual volumen de semen y Azul Tripán (0,2%). Se dejaron secar al aire y se fijaron con Rojo Neutro. Se lavaron con agua destilada y se tiñeron con Giemsa durante 1,5 o 24 h. En el semen fresco se evaluó: volumen, movilidad espermática, concentración, funcionalidad de membranas (HOS) y viabilidad (CFDA/PI). Se utilizó una T de Student apareada para comparar los dos tiempos de tinción y una correlación de Pearson para comparar la viabilidad por CFDA/PI y por TT. Los valores de las características seminales evaluadas en el semen fresco fueron normales para la especie. En la TT, se observaron 8 patrones de espermatozoides: vivos con acrosoma intacto y membrana intacta, vivos con acrosoma ausente o dañado y membrana intacta, vivos con acrosoma intacto y membrana dañada, vivos con acrosoma ausente o dañado y membrana dañada, muertos con acrosoma intacto y membrana intacta, muertos con acrosoma ausente o dañado y membrana intacta, muertos con acrosoma intacto y membrana dañada y muertos con acrosoma ausente o dañado y membrana dañada. No se observaron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) entre los dos tiempos de tinción con Giemsa en los diferentes patrones. Se observó una correlación altamente positiva ( $r = 0,78$ ;  $p < 0,01$ ) entre los vivos evaluados por CFDA/PI y los vivos por TT cuando se utilizó 1,5 h. Cuando se tiñó por 24 h, se observó una tendencia a la correlación ( $r = 0,56$ ;  $p = 0,11$ ). Los resultados indican que sería posible evaluar la TT un día diferente al de la extracción de la muestra. Sin embargo, la correlación altamente positiva entre CFDA/PI y TT cuando se tiñó por 1,5 h indicarían que este tiempo de tinción con Giemsa sería más apropiado.



## MODIFICACIONES DEL PLAN DE VACUNACIÓN CONTRA EL COMPLEJO RESPIRATORIO BOVINO

Díaz, A<sup>1</sup>; Almozni, B<sup>1</sup>; Ferrari C<sup>2</sup>; Laogioia, G<sup>2</sup>; Fernández Francia, G<sup>3</sup>; Formia, N<sup>3</sup>; Mejía, M<sup>4</sup>; Canellada, A<sup>1</sup>; Castro, M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Estudios de la Inmunidad Humoral “Prof. Dr. Ricardo A. Margni” (IDEHU, CONICET-UBA). Cátedra de Inmunología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. <sup>2</sup> Biogénesis Bagó S.A., Garín, Buenos Aires. <sup>3</sup> Escuela M.C. y M.L. Inchausti, Universidad Nacional de la Plata, 25 de Mayo, Buenos Aires. <sup>4</sup> Veterinario Rural, Servicios Veterinarios, profesionales, científicos y técnicos, Lincoln, Buenos Aires.

El Complejo Respiratorio Bovino (CRB) es una patología que afecta el aparato respiratorio, de curso agudo a crónico y que culmina con un cuadro neumónico, causando la muerte de gran parte del ganado bovino. Es de etiología polimicrobiana, siendo *Pasteurella multocida* (Pm), *Mannheimia haemolytica* (Mh) e *Histophilus somni* (Hs) las bacterias desencadenantes del proceso inflamatorio pulmonar. La enfermedad genera grandes pérdidas económicas a nivel local y mundial. Es por esto, que el CRB es una enfermedad de gran importancia para el campo. El objetivo de este trabajo fue modificar el plan de vacunación habitualmente empleado en el campo y evaluar la respuesta inmune generada por una vacuna comercial comparándola con una vacuna experimental. Para ello, se emplearon terneros destetados del campo de la escuela Inchausti, a los cuales se le incorporó una 3er dosis al plan de vacunación generalmente usado en el campo (2 dosis). De esta forma, los terneros fueron inmunizados los días 0, 21 y 42 con 5ml/dosis de cada vacuna por vía subcutánea. Se inocularon 5 bovinos con la vacuna comercial Biopoligen HS® (Biogénesis Bagó) formulada con mezcla de antígenos virales, los tres antígenos bacterianos y sales de aluminio como adyuvante. Para la vacuna experimental se inmunizaron 5 terneros con sobrenadante de cultivo de Pm formulada con sales de aluminio, y 1 vaca control se inoculó con PBS y sales de aluminio. Los bovinos fueron sangrados los días 0, 21, 42 y 64 del plan. Mediante un ELISA indirecto previamente puesto a punto en el laboratorio se midió la producción de anticuerpos específicos para Pm, Mh, e Hs. Los resultados obtenidos mostraron diferencias entre las vacunas administradas, siendo la vacuna comercial más eficaz en la producción de anticuerpos específicos frente a las bacterias causantes de la enfermedad. La modificación del plan de inmunización convencional con la inclusión de una dosis más, generó mayores títulos de anticuerpos específicos. El empleo de la vacuna experimental con sobrenadante de cultivo de Pm generó anticuerpos que presentaron reactividad cruzada contra Mh. Se concluye que el plan de vacunación genera anticuerpos específicos contra las bacterias causantes del CRB, y que la incorporación de una 3er dosis genera títulos más altos. Además, comprobamos que la vacuna experimental con sobrenadante de cultivo es menos efectiva para producir anticuerpos comparada con la vacuna compuesta con bacterias enteras, a pesar de que genera respuesta cruzada entre Pm y Mh. Los planes de vacunación controlados en bovinos nos permitieron evaluar la respuesta inmune conferida por las vacunas y estudiar las posibles modificaciones sobre dosis e inmunógenos.

## CONTRASTE NEGATIVO SUCESIVO EN PERROS DOMÉSTICOS: EL IMPACTO DE LA CALIDAD DEL REFUERZO EN LA CONDUCTA

Dzik, MV<sup>1 2</sup>; Iglesias, MG<sup>1 3</sup>; Cavalli, MC<sup>1 2</sup>; Bentosela, M<sup>1 2</sup>

<sup>1</sup>Grupo de Investigación del Comportamiento en Cánidos (ICOC).

<sup>2</sup>Instituto de Investigaciones Médicas (IDIM- UBA- CONICET).

<sup>3</sup>Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA.

En varias especies se ha visto que el cambio repentino e inesperado de una alta calidad o cantidad de refuerzos hacia una baja calidad o cantidad genera cambios en el comportamiento tales como la reducción de respuestas operantes o de consumo de alimentos. Los animales formarían expectativas para comparar un refuerzo presente con aquel recibido previamente. Este efecto es conocido como Contraste Negativo Sucesivo (CNS) y se ha asociado con un estado emocional negativo, como la frustración. El CNS se halló en varios mamíferos pero no en vertebrados no mamíferos. Sin embargo, en perros domésticos (*Canis familiaris*) los resultados son controversiales. Una de las razones es que el factor social influiría en la ocurrencia del fenómeno. No hay estudios en perros que analicen CNS en tareas no sociales. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de CNS en perros mediante una tarea no social. Se evaluaron 27 perros, 17 machos y 10 hembras,  $4,15 \pm 2,11$  años de edad (promedio  $\pm$  desvío estándar), 16 de varias razas y 11 mestizos, sin entrenamiento específico para la tarea y con una privación de alimentos de 6 horas. La prueba consistió en la interacción del perro con un juguete canino de encastre en el cual el animal debe remover 9 piezas en forma de huesos para obtener 9 trozos de alimento escondido en el dispositivo. Se agruparon al azar a los perros en grupo experimental (n=10), grupo salchicha (n=7) y grupo control (n=10). El grupo experimental recibió tres fases: 1) 4 ensayos de alimento de alta calidad (hígado cocido); 2) 3 ensayos de alimento de baja calidad (alimento balanceado); y 3) 1 ensayo de alimento de alta calidad (hígado cocido). El grupo salchicha fue idéntico salvo que se utilizó salchicha como alimento de alta calidad. El grupo control fue idéntico salvo que en todas las fases el alimento fue de baja calidad (balanceado). La duración de cada ensayo fue de 3 minutos con intervalos de 1 minuto entre ensayos y un intervalo de 20 minutos entre fase 1 y 2. Se analizaron la cantidad de huesos levantados y de trozos de alimento consumidos. Los resultados mostraron que los perros del grupo experimental levantaron significativamente menos huesos y consumieron menos refuerzos durante la fase de cambio que los del grupo control. Esto se observó sólo en los animales que habían recibido hígado pero no salchicha poniendo de manifiesto la importancia de la discrepancia del valor apetitivo entre el reforzador esperado y el obtenido. En conclusión hemos mostrado un robusto efecto de contraste sucesivo negativo en perros domésticos evaluándolos con una tarea no social y en el ambiente en el que viven.

**ESTUDIO DE LA CINÉTICA Y DEL COMPORTAMIENTO DEL BIOFILM MIXTO ENTRE LEVADURAS Y *STREPTOCOCCUS EQUI* SUBSP. *ZOOEPIDEMICUS*, AISLADAS DE EQUINOS.**

Etchecopaz, A<sup>1</sup>; Iovannitti, C<sup>2</sup>; Guida, N<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Enfermedades Infecciosas. <sup>2</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Medicina, Centro de Micología. Buenos Aires, Argentina.

Las infecciones del útero en yeguas no preñadas se han hecho más frecuentes con el empleo extendido de antibióticos y la manipulación de la reproducción intensiva. La bacteria aislada con mayor frecuencia de endometritis, *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*, puede ser habitante residente de la mucosa vaginal y nasofaríngea equina y se comporta como patógeno oportunista en el mismo. De igual forma, pero con menor frecuencia, las levaduras residentes en las mucosas del equino pueden generar infecciones oportunistas. La interacción entre microorganismos dentro de la formación de biofilm podría ser un factor determinante en la patogenia de estas infecciones. El objetivo de este trabajo fue desarrollar biofilm in vitro de levaduras aisladas de mucosas de equinos, cuantificarlo y estudiar su cinética de desarrollo. Se trabajó con 29 aislamientos y la cepa de referencia *Candida albicans* ATCC 66393. En 4 microplacas de 96 pocillos de poliestireno de fondo plano estériles, se inocularon 200 µl de inóculo a una concentración equivalente al 1 de Mc Farland y se incubaron a 37° C en atmósfera enriquecida en CO<sub>2</sub>. Se realizaron mediciones a las 2, 24, 48 y 72 horas. Se estimó la producción de biofilm a través de colorimetría y a través del recuento de unidades formadoras de colonia (UFC). Para estimación por colorimetría, en cada tiempo de medición, se lavaron los pocillos 3 veces con solución Buffer fosfato pH 7 (PBS) y se agregó 200 µl de Cristal Violeta al 1% a cada pocillo. Luego de incubación por 15 minutos a temperatura ambiente y en oscuridad, se lavaron los pocillos 3 veces con PBS estéril para remover el exceso de colorante y se realizó la elución del colorante adherido a las células agregando 200 µl de etanol 96%. La densidad óptica del sobrenadante se midió a 570 nm. Para la estimación por recuento de UFC, luego de los lavados correspondientes se agregaron 200 µl de PBS estéril, se raspó cada pocillo con raspadores estériles, se hicieron diluciones en base 10 y se sembraron 10 µl de cada dilución por la técnica de drop test. Se han demostrado diferentes comportamientos en el desarrollo de biofilm y esto estaría relacionado con la capacidad de adherirse y persistir en la mucosa del hospedador. Estudios posteriores permitirán profundizar más en el comportamiento del biofilm de levaduras y en su interacción con *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* que cohabitan las mucosas del equino.

## EFFECTOS DEL TROLOX PARA MEJORAR LA CALIDAD SEMINAL DE MUESTRAS CONGELADAS-DESCONGELADAS DE SEMEN BOVINO

Filosa, A; Córdoba, M

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA), Cátedra de Química Biológica.

Universidad de Buenos Aires-CONICET, Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA).

Buenos Aires, Argentina

Los procesos espermáticos de capacitación y reacción acrosomal (RA) producen alteraciones bioquímicas y ultraestructurales que modifican la fluidez de la membrana plasmática y la variación de especies reactivas del oxígeno (EROs). El espermatozoide bovino es dependiente del acoplamiento mitocondrial que determina el estado redox y energético celular. Inductores fisiológicos de la capacitación (heparina y ácido hialurónico) y de la RA (progesterona) fueron usados para promover los procesos espermáticos y la posterior fertilización *in vitro*. Estos inductores involucrados en el metabolismo espermático, podrían ser uno de los responsables del estado redox celular. Un análogo soluble de la vitamina E, trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-ácido carboxílico), puede mejorar la calidad espermática post-descongelamiento en espermatozoides de varias especies, pero aún no ha sido demostrado en bovino. El objetivo de la beca es analizar el efecto antioxidante del trolox sobre el mejoramiento de la calidad de semen congelado-descongelado bovino, estudiando los cambios celulares provocados por su presencia, a través de los siguientes parámetros funcionales: capacitación, RA, motilidad, medición del estado redox, potencial de membrana mitocondrial y la fertilización *in vitro*. En esta primera etapa se evaluó dicho potencial mediante el uso de la tinción mitocondrial 5,5', 6,6'- tetracloro-1,1', 3,3'-ioduro de tetra-etil-benzimidazolil-carbocianina (JC-1), que permite distinguir entre espermatozoides con alta y baja proporción de mitocondrias funcionales. Las mediciones fueron realizadas en un citómetro de flujo BD FACS Canto II con 488 nm de EX y filtros FL1 (EM: 530 nm) y FL2 (EM: 585 nm). Se evaluó también la capacitación por la coloración epifluorescente de clorotetraciclina (CTC) en presencia de heparina. Los datos fueron analizados por ANOVA y test de Tukey ( $p < 0,05$ ). El potencial de membrana mitocondrial fue expresado en porcentaje de unidades arbitrarias de fluorescencia de células en el rango de rojo, observándose en muestras tratadas con heparina un incremento ( $50,61 \pm 5,44$  %) con respecto a su control ( $24,75 \pm 8,88$  %) ( $p < 0,05$ ). El porcentaje de capacitación fue de  $26,50 \pm 7,42$  % y  $5,25 \pm 1,50$  % ( $p < 0,05$ ), respectivamente. De esta manera, estos datos preliminares indican que la heparina induce la capacitación provocando un incremento en el potencial de membrana mitocondrial en el espermatozoide criopreservado bovino.

## EVALUACIÓN DE KITS COMERCIALES PARA LA EXTRACCIÓN DE DNA DE *TRYPANOSOMA VIVAX* EN RUMIANTES

Florentin, AS<sup>1</sup>; Dubois, EF<sup>1</sup>; Figueredo, M<sup>2</sup>; Monzón, CM<sup>1</sup>; Wilkowsky, SE<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigaciones y Transferencia de Formosa, Ruta Nacional N° 11 km 1164. CP. 3600, Formosa, Argentina. <sup>2</sup>Laboratorio de Biología Molecular - Hospital de Alta Complejidad “Pte. Juan Domingo Perón”, Pcia de Formosa, Arg. <sup>3</sup>CICVyA, INTA-Castelar, De Los Reseros y Nicolás Repetto S/N –CC 25. C.P. 1408, Hurlingham, Bs As, Argentina. E-Mail: florentinas@gmail.com

Las enfermedades parasitarias causadas por hemoflagelados del género *Trypanosoma* producen importantes pérdidas económicas en áreas tropicales y subtropicales. *T. vivax* es originario de África y afecta bovinos, ovinos, caprinos, búfalos y cérvidos salvajes, ubicándose principalmente en sangre, linfa y ganglios linfáticos. En Argentina, fue hallado en el año 2008 en bovinos y búfalos de Formosa y Chaco mediante métodos parasitológicos. La técnica de PCR, ha permitido revelar infecciones en animales sintomáticos o asintomáticos sin parasitemia detectable, con gran sensibilidad y especificidad. El objetivo del presente trabajo fue evaluar dos kits comerciales para la extracción de DNA de *T. vivax* en rumiantes de la provincia de Formosa y comparar los resultados por PCR. Se recolectaron muestras de sangre de 19 rumiantes de 3 establecimientos diferentes. Se realizó determinación del hematocrito, la prueba de Woo y frotis coloreado con Giemsa para la observación directa del parásito. Se seleccionaron dos kits comerciales para la extracción de DNA, “Kit 1: Inbio Highway” y “Kit 2: Roche”, y se aplicaron según sus indicaciones. Al kit 1, se le realizó un ensayo posterior para evaluar el protocolo descrito versus el reemplazo de SILE por PBS, la utilización de doble cantidad de sangre y el uso del sobrenadante que se descarta. Se realizó la PCR dirigida al gen PRAC (Proline Racemase) de *T. vivax*. Los productos obtenidos fueron analizados en gel de agarosa al 2% con Bromuro de Etidio. Los resultados mostraron un hematocrito promedio de 22% con valor mínimo de 9% y máximo de 33%. Del total de muestras, 8 resultaron positivas a *T. vivax* mediante observación directa. La PCR PRAC detectó 6 de las 8 muestras positivas con kit 1, y 8 positivas con el kit 2, de las cuales, una no pudo ser detectada a la observación directa. El ensayo realizado al kit 1, presentó como resultado la presencia de DNA parasitario en todos los tratamientos, inclusive en el descarte. La especificidad de la PCR fue evaluada con DNA heterólogo de *Babesia bovis*, *B. Bigemina*, *Anaplasma marginale* y *T. evansi*, resultando todas estas muestras negativas. En el presente trabajo, el kit 2 detectó 2 animales positivos más que el kit 1. La principal diferencia entre estos kits, es el descarte de sobrenadante en el kit 1. Debido a la pérdida de DNA en el mencionado descarte, se podría explicar la diferencia en los resultados de la PCR. La PCR funcionó adecuadamente utilizando el protocolo reportado, lo que demuestra la conservación de las regiones blanco de los primers utilizados (PRAC fue ajustada con cepas de Etiopía, Nigeria y Venezuela) y la especificidad resultó elevada. Podemos concluir que consideramos al kit 2 más adecuado para la extracción de DNA de *T. vivax* y, teniendo en cuenta que el diagnóstico parasitológico es el único método de diagnóstico implementado en Argentina (sensibilidad del 68%), es menester ajustar con un mayor número de muestras, pruebas moleculares que podrían resultar con elevada sensibilidad y especificidad.

## **TERAPIA FÍSICA Y REHABILITACIÓN EN ARTROPLASTIA DE CADERA EN CANINOS**

\*FORT, S; \*MERCADO, M; \*PALLARES, C;\* GANDARA, E;\*\*CHAN, D

\*Universidad de Buenos Aires, Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Unidad de Fisioterapia y Rehabilitación en Pequeños Animales, Cátedra de Enfermedades Quirúrgicas y \*\*Cátedra de Bioestadística. Buenos Aires, Argentina.

La Terapia Física utiliza distintos agentes físicos para tratar diferentes enfermedades del aparato locomotor. La excisión artroplástica de cabeza y cuello femoral es un procedimiento quirúrgico para tratar afecciones agudas o crónicas de la articulación de la cadera. El objetivo de este trabajo fue comparar, mediante instrumentos de valoración clínica, dos protocolos fisioterápicos para la rehabilitación en artroplastia de cadera. Se trataron 14 pacientes caninos, ambos sexos y adultos, en la Unidad de Fisioterapia del Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Buenos Aires, a los que se les realizó un tratamiento quirúrgico mediante la excisión artroplástica de cabeza y cuello femoral. Se establecieron aleatoriamente dos grupos de 7 caninos cada uno. En la sesión inicial todos los pacientes tenían dolor grado 3. Al Grupo A se le aplicó el protocolo de Electroanalgesia (TENS) y al Grupo B el protocolo de TENS y Campos Magnéticos Pulsados de Baja Frecuencia. Se aplicó TENS con un equipo marca VIP durante 20 minutos en cada sesión y Campos Magnéticos Pulsátiles de baja frecuencia (CMP) con equipo marca VIP, la aplicación fue de 40 minutos en cada sesión, ambos en el miembro afectado. Se utilizó como control el miembro contra lateral en ambos grupos. Se realizaron 15 sesiones totales con una frecuencia semanal de dos veces. Los instrumentos de valoración clínica fueron Escala de Dolor Descriptiva Simple, Goniometría, Circunferencia Muscular y Ultrasonografía. Para realizar ecografía en los pacientes caninos se utilizó un equipo, SonoScape A6V/A5V con traductor lineal de 7,5-12 MHz. Procediendo, en todas las sesiones, primero a la exploración de estructura y luego a valoración dinámica de funcionalidad en la articulación coxofemoral. Para el análisis estadístico, se utilizó la prueba de Mann Whitney y Test t. La reducción del dolor resultó estadísticamente significativa (prueba de Mann Whitney, p valor <0.001) sin embargo no se halló una ventaja adicional de la magnetoterapia. (Prueba de Mann Whitney, p valor 0.47). Sólo resultaron significativas las diferencias entre los grupos definidos por el tratamiento entre las variaciones del diámetro afectado y la extensión del afectado. No se registraron diferencias significativas para los miembros sanos. En este trabajo se pudo observar en este grupo de pacientes los beneficios de la combinación de una técnica puntual y antiálgica como el TENS y una técnica global como la Magnetoterapia, con efecto miorrelajante y vasodilatador. Esta última permitió tratar y mejorar la contractura muscular y evitar la formación de adherencias. Los ángulos de extensión y perímetro muscular en el grupo B progresaron favorablemente, acelerando el proceso de recuperación funcional.

## **ADDITION OF SEMINAL PLASMA TO FROZEN-THAWED LLAMA SPERMATOZOA DOES NOT PRESERVE SPERM MOTILITY**

Fumuso, FG<sup>1,2</sup>; Carretero, MI<sup>1,2</sup>; Chaves, MG<sup>1</sup>, Neild DM<sup>1</sup>, Miragaya, MH<sup>1</sup>, Giuliano, SM<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA), Cátedra de Teriogenología. Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

Artificial insemination results in South American Camelids (SAC) have been poor when using cryopreserved semen, even when inseminating the same number of live motile sperm (0 to 26% pregnancy rates). Furthermore, to obtain pregnancies with cryopreserved semen, insemination immediately after confirming ovulation seems to be necessary, perhaps indicating that SAC sperm survival is low after thawing. In some species, the addition of seminal plasma (SP) improves sperm survival after cryopreservation, but in llamas this has not been studied. Therefore, the aim of this study was to determine the effect of the addition of different dilutions of seminal plasma on the survival of frozen-thawed llama spermatozoa. Sixteen ejaculates from four adult llama males were obtained by electroejaculation, under general anesthesia. Once the ejaculate was obtained, with the aim of separating spermatozoa from SP, each ejaculate was diluted 4:1 in 0.1% collagenase in HEPES-TALP medium and incubated 4 minutes at 37 °C. Immediately after incubation, ejaculates were centrifuged for 8 min at 800g and the pellets were re-suspended in LEY-DMF extender (11% lactose, fresh egg yolk and 7% dimethylformamide (DMF)). Samples were equilibrated for 20 min at room temperature, placed in 0.50-ml straws and frozen. After thawing, samples were divided into three aliquots for addition of SP: 0% (control), 10% and 50% (final concentrations) and then incubated at 37 °C for 3 h. Sperm motility, viability, membrane function, acrosome status and DNA quality (chromatin condensation and fragmentation) were evaluated in raw semen and in post-thaw samples at time 0, 1.5 and 3 h. A split-plot design was applied, blocking the males and using the treatment as one factor with three levels (0, 10 and 50% SP) and time as the other factor, also with 3 levels (0, 1.5 and 3h). No interaction was observed between treatments and times for each of the seminal characteristics evaluated. After thawing, the control and both SP dilutions (10 and 50%) maintained sperm viability, membrane function, acrosome status, chromatin condensation and DNA fragmentation ( $p>0.05$ ) over the incubation time. Sperm motility significantly declined ( $p\leq 0.05$ ) at 3 h of incubation in all treatments (control, 10 and 50% SP). The rapid loss of motility of post-thaw llama spermatozoa while maintaining other seminal characteristics when in the presence of SP seems important to highlight and requires further studies. To conclude, post-thaw addition of 10% and 50% seminal plasma was unable to preserve sperm motility or improve the survival of llama frozen-thawed spermatozoa.

## **EFFECTO DE LA VITRIFICACIÓN Y CULTIVO *IN VITRO* POST ATEMPERADO SOBRE FOLÍCULOS PREANTRALES PORCINOS CONTENIDOS EN LÁMINAS DE CORTEZA OVÁRICA**

Gabriel, P; Fratto, MC; Fischman, ML

Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA). Buenos Aires, Argentina.. Cátedra de Física Biológica. Buenos Aires, Argentina.

La vitrificación de tejido ovárico permite preservar material genético de interés. El soporte utilizado modificaría la eficacia del proceso. El cultivo *in vitro* post atemperado del tejido a tiempos cortos incrementaría el porcentaje de folículos preantrales (FPA) normales. El objetivo del presente trabajo es determinar el soporte óptimo para la vitrificación de FPA porcinos contenidos en láminas de corteza ovárica y evaluar el efecto del cultivo post-atemperado sobre la morfología y morfometría de dichos folículos. En una primera etapa se evaluaron distintos soportes. Se emplearon ovarios de hembras faenadas para consumo (n=10). Las muestras de corteza ovárica fueron expuestas a una solución de vitrificación (TCM-199, HEPES 25Mm, antibióticos, 30% etilenglicol, 20% de suero fetal bovino y sacarosa 0,25M) y vitrificadas usando distintos soportes: criotubos, cápsulas BEEM® y agujas de acupuntura. Se realizó la evaluación morfológica sobre cortes histológicos teñidos con Hematoxilina-Eosina con microscopía de campo claro (x400) y un análisis morfométrico sobre fotos digitales de dichos cortes obtenidas con la cámara LEICA DC-180 y el programa de captura IM\_50 LEICA. Mediante el software Qwin PlusR se obtuvieron los valores de área citoplasmática, nuclear y total de los FPA. El análisis estadístico se realizó mediante el test de Friedman (p< 0,05). De un total de 607 FPA analizados, se observó un porcentaje significativamente mayor de folículos morfológicamente normales al utilizar criotubos o agujas de acupuntura, tanto en primordiales (Control: 84,89%, A: 65,13%, B: 25,03%, C: 49,97%) como en primarios (Control: 77,13%, A: 40,50%, B: 18,23%, C: 44,02%). La utilización de cápsulas BEEM® aumentó el porcentaje de lesiones en el núcleo y en el citoplasma simultáneamente con respecto a los otros soportes. La vitrificación del tejido produjo una disminución significativa de todos los parámetros morfométricos evaluados con respecto al control independientemente del soporte utilizado. Las cápsulas BEEM® produjeron una mayor reducción del área nuclear. En la segunda etapa se vitrificarán láminas de corteza ovárica porcina utilizando criotubos y agujas de acupuntura. Luego del atemperado de dichas muestras, las mismas se colocarán a 39°C en atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub> en cámara húmeda en un medio de cultivo compuesto por  $\alpha$ -MEM (pH: 7,2-7,4), ITS (1mg/ml insulina, 0,55 mg/ml transferrina, 0,5  $\mu$ g/ml selenio), 2 mM glutamina, 2 mM de hipoxantina, 1,25 mg/ml de albúmina de suero bovino y antibióticos combinado con concentraciones crecientes de FSHr (0 ng/ml, 50 ng/ml y 100 ng/ml). De cada medio, se evaluarán dos muestras a las 24 horas y otras dos a los 8 días de cultivo. Se espera que las 24 horas de cultivo tengan un efecto positivo sobre los FPA en todos los medios ya que se favorecería la rehidratación folicular. La evaluación morfológica y morfométrica permitirá observar si existen diferencias significativas entre los distintos medios de cultivo, fundamentalmente a tiempos más prolongados (8 días).



## USO DE ANTIBIÓTICOS EN TAMBOS CAPRINOS

Galotta, ML; Iriel, A, Moscuza, CH; Fernández Cirelli, A

Universidad de Buenos Aires. CONICET. Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA). Buenos Aires, Argentina.

Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Instituto Centro de Estudios Transdisciplinarios del Agua (CETA). Buenos Aires, Argentina.

En los últimos años, se ha observado un crecimiento en la demanda de productos y subproductos de origen caprino y ovino. Este aumento implicó la especialización e intensificación de la actividad con el objetivo de aumentar los márgenes productivos. Los tambos de pequeños rumiantes se caracterizan por tratarse de explotaciones con un número reducido de animales, tener una actividad estacional y mano de obra familiar. La actividad se concentra en las provincias de Buenos Aires, La Pampa, Santa Fe, Santiago del Estero, Mendoza y Neuquén (SENASA). Los principales productos obtenidos son: leche fluida, dulce de leche y quesos, además de la de venta de los animales para consumo. Una de las herramientas más comunes en el manejo de tambos es la administración de antibióticos; los que se emplean para el tratamiento y prevención de enfermedades como así también como promotores de crecimiento. Según las encuestas realizadas en tambos ubicados en la provincia de Buenos Aires, los compuestos de uso más frecuente son los derivados de las sulfonamidas. Estos son incorporados en la alimentación de las crías como agentes promotores del crecimiento. Esta práctica conlleva un riesgo potencial sobre el ambiente productivo debido a la liberación de estos compuestos y sus metabolitos por orina y materia fecal. Una vez depositados en el suelo, y dependiendo de las propiedades de este, podrán ser transportados por escorrentía a cuerpos de agua superficiales o ser retenidos o lixiviados pudiendo alcanzar las napas de agua subterránea. El presente trabajo tiene por objetivo estudiar las propiedades de adsorción de una sulfonamida en un suelo proveniente de un tambo caprino localizado en Uribelarrea (Buenos Aires). Para ello, se desarrolló y validó una técnica de análisis por HPLC que permitió la detección y cuantificación de sulfadimetoxina en medio acuoso. La fase móvil empleada es una solución acetonitrilo, metanol y ácido fosfórico en una relación 12/28/60. El límite de detección y de cuantificación de la misma es de 35 y 90 ppb respectivamente y el tiempo de retención del compuesto es de 14 minutos para un flujo de 1 mL/min. Los ensayos de adsorción de sulfonamida en suelo se realizaron en sistemas batch para lo cual se determinó previamente una relación óptima de 5g suelo cada 50 mL de solución. Los suelos fueron estabilizados con una solución de  $\text{CaCl}_2$  0,01 M antes del agregado del antibiótico y la actividad microbiana del mismo se inhibió mediante el uso de azida de sodio ( $\text{NaN}_3$  0,001 M) debido a su función biocida. Como resultado preliminar se observó que el que el suelo estudiado es capaz de retener hasta un 44% de antibiótico mientras que el porcentaje restante estaría disponible para ser transportado a los acuíferos o cuerpos de agua cercanos.

## EVALUACIÓN DE RESISTENCIA ANTIMICROBIANA EN CEPAS DE *SALMONELLA ENTERICA* AISLADAS DE EQUINOS

Garda, D<sup>1,2</sup>; Bustos, C<sup>1,3</sup>; Guida, N<sup>1</sup>; Mesplet, M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Enfermedades Infecciosas. <sup>2</sup>Becaria Estímulo UBACyT. <sup>3</sup>Becaria Postdoctoral CONICET

El uso masivo de antimicrobianos ha generado la aparición y el veloz desarrollo del fenómeno de la resistencia antimicrobiana. Aunque el desarrollo de resistencia ocurre naturalmente con el tiempo, el exceso de uso o la utilización inadecuada de los antimicrobianos tanto en salud humana como en medicina veterinaria, han acelerado notablemente este proceso. El objetivo de este trabajo consiste en evaluar la circulación de cepas de *Salmonella enterica* resistentes a antimicrobianos en equinos y analizar el perfil de resistencia antibiótica. Hasta la fecha, se analizaron 22 cepas de *Salmonella enterica* subsp. *enterica* de las serovariedades: Abortusequi (n: 16), Freetown (n: 1), Newport (n: 2), Oranienburg (n: 1) y Typhimurium (n: 2) pertenecientes al cepario del Laboratorio Escuela de Enfermedades Infecciosas (LEEI) que habían sido aisladas de muestras provenientes de equinos desde 2011 a la fecha, en diferentes laboratorios veterinarios. Para analizar la sensibilidad se utilizó el método de difusión con discos de Bauer-Kirby según recomendaciones del *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI). Se analizó la sensibilidad a los siguientes 17 antimicrobianos: Penicilina G, Ampicilina, Amoxicilina, Ácido Clavulánico, Ampicilina-Sulbactam, Piperacilina, Piperacilina tazobactam, Imipinim, Estreptomicina, Enrofloxacin, Tetraciclina, Gentamicina, Rifampicina, Azitromicina, Cloranfenicol, Florfenicol, Ciprofloxacina, Trimetoprim sulfametoxazol. Previo a la realización de los antibiogramas, se realizó un control de calidad de cada uno de los antibióticos presentes en el laboratorio con la cepa de referencia *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Se detectaron 4 cepas resistentes a Rifampicina, pertenecientes a las serovariedades Newport (2), Freetown (1) y Oranienburg (1); y una cepa de la serovariedad Typhimurium resistente a Tetraciclina. Es importante destacar que se identificaron mutantes resistentes de esta última cepa que crecieron en el interior de los halos de inhibición de Ampicilina, Penicilina G y Estreptomicina. La identidad de estas mutantes fue confirmada mediante pruebas bacteriológicas clásicas e inmunoaglutinación (Grupo A-S, *Remel Europe*). Todas las cepas de la serovariedad Abortusequi analizadas hasta el momento, resultaron sensibles a los antibióticos testeados. Se prevé determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM) a aquellas cepas que resultaron de sensibilidad intermedia o resistente y realizar la caracterización molecular de los genes de resistencia correspondientes. Considerando que los equinos podrían actuar como hospedadores susceptibles y reservorios, y que existe un riesgo potencial de transmisión zoonótica de este agente, este trabajo contribuye a fortalecer la vigilancia de la resistencia antimicrobiana en nuestro medio.

Este trabajo fue financiado por el proyecto UBACyT 20020130100299BA

## PERCEPCIONES, ACTITUDES Y CONDUCTAS ANTE LA PRESENCIA DE ANIMALES SINANTRÓPICOS EN EL BARRIO RODRIGO BUENO, CABA. RESULTADOS PRELIMINARES.

Gonzalez, L<sup>1</sup>; Berra, Y<sup>1,2</sup>

1 Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Salud Pública.  
2 CONICET. Buenos Aires, Argentina.

En los últimos años, la creciente y escasamente planificada urbanización ha generado que animales domésticos, sinantrópicos y especies silvestres convivan en estrecho contacto con el hombre en el ámbito urbano. Algunas especies sinantrópicas pueden constituirse como reservorios en la emergencia y diseminación de enfermedades. Esta dinámica ecológica podría generar riesgos para la salud, especialmente, en grupos poblacionales altamente susceptibles. Se ha planteado que la capacidad para el desarrollo y mantenimiento de las enfermedades en animales en ecosistemas urbanos, están muy influidos por las decisiones humanas. Poco se conoce sobre el rol que juegan las especies sinantrópicas y su interacción con especies domésticas en la cuali-cuantificación de riesgos en la transmisión de enfermedades en el área urbana. El objetivo es caracterizar y analizar las percepciones, actitudes, y conductas de las personas en relación a la presencia de especies sinantrópicas en el barrio Rodrigo Bueno, CABA. Se elaboró una encuesta, realizada en dos estaciones diferentes (verano y otoño). Para dicha encuesta, se utilizó identificación fotográfica para reconocer los animales, y una escala de actitudes tipo Likert semi-cuantitativa para la caracterización de variables relacionadas con percepciones, actitudes y conductas ante la presencia de animales sinantrópicos. Se recolectaron un total de 32 encuestas entre diciembre de 2016 y abril de 2017. Del total el 90,6% (29) reconoce haber avistado un roedor del género *Rattus*. De este porcentaje, el 44,8% (13) afirma haber visto sólo la especie *Rattusnorvegicus*, el 27,6% (8) la especie *RattusRattus*, y el 27,6% (8) ambas especies. Esto marca una dominancia de la especie *Rattusnorvegicus* con porcentaje total de avistaje del 72,4% (21). En cuanto a la frecuencia con la que avistan estas especies, el 65,5% afirma que es alta. Un 12,5% de estos avistajes fueron dentro de sus casas, mientras que la mayoría indicó alrededor del barrio (50,0%). El 48,2% de los encuestados cree que es alta la posibilidad de sufrir una agresión por parte del animal sinantrópico avistado. Además, un 86,0% de la población encuestada considera que el riesgo de adquirir una enfermedad debido a alguna de las especies sinantrópicas es alto. En relación con los animales domésticos que conviven con los encuestados, el 93,8% (32) es propietario de uno o más caninos, de los cuales el 55,5% estuvo en contacto con roedores del género *Rattus*. Un 31,3% de los encuestados era propietario de uno o más gatos de los cuales el 40% estuvo en contacto con los roedores avistados. Mediante los datos aportados por las encuestas, se concluye que la presencia de roedores del género *Rattus*(especialmente *R. norvegicus*) en el barrio es alta y que aproximadamente la mitad de los caninos y felinos han estado en contacto con ellos. Los encuestados, en su mayoría, relacionan la presencia de estos animales sinantrópicos con el riesgo de transmisión de enfermedades. El barrio es un ambiente donde distintas poblaciones animales contactan entre sí y, al mismo tiempo, conviven en estrecha relación con las poblaciones humanas. Estos estudios constituyen una prioridad para la salud global pues conocer la distribución de las poblaciones de animales sinantrópicos, potenciales reservorios de agentes zoonóticos, permitiría predecir el impacto en la salud de otras poblaciones animales y humanas.

## DINÁMICA POBLACIONAL DE GARRAPATAS PRESENTES EN UN BARRIO CON NECESIDADES BÁSICAS INSATISFECHAS DE LA CIUDAD AUTÓNOMA DE BUENOS AIRES Y SU RELACIÓN CON LA RESERVA ECOLÓGICA COSTANERA SUR

González, S<sup>1</sup>; Cicuttin G<sup>2</sup>; Marcos E<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Salud Pública. Buenos Aires, Argentina.

<sup>2</sup>Instituto de Zoonosis Luis Pasteur. Buenos Aires, Argentina.

Las garrapatas son ectoparásitos hematófagos reconocidos por su capacidad de parasitar vertebrados domésticos, silvestres y al hombre. Su importancia sanitaria radica en que pueden provocar parálisis, toxicosis, alergias y al mismo tiempo ser vectores de numerosos patógenos (virus, bacterias y protozoos), los cuales pueden causar enfermedades infecciosas, muchas de las cuales son zoonosis. El hombre y los animales interactúan sobre nuevas interfases (silvestre-urbana) debido a cambios en los hábitats naturales dando lugar a numerosas oportunidades para la transmisión de zoonosis. El barrio carenciado Rodrigo Bueno se encuentra ubicado en terrenos lindantes a la Reserva Ecológica Costanera Sur (RECS), un área natural protegida de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires (CABA). La cercanía de los ambientes y el posible tránsito de animales entre ambos lo transforman en un interesante sistema de estudio para la dinámica espacio-temporal de garrapatas como potenciales vectores de zoonosis. Estudios recientes en CABA indican la presencia de cuatro especies: *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato, *Amblyomma aureolatum*, *Amblyomma triste* e *Ixodes auritulus*. Las últimas tres exclusivamente en la RECS. Por lo tanto se plantea una correspondencia entre el Barrio Rodrigo Bueno (área urbana) y la RECS (área silvestre), respecto de la presencia y dinámica estacional de especies de garrapatas, favorecido por el estrecho contacto entre ambos ambientes y la circulación de las mismas entre animales domésticos y sinantrópicos. El objetivo del presente estudio es determinar la abundancia relativa y distribución estacional de las garrapatas en el Barrio Rodrigo Bueno. Se recolectarán estacionalmente (cada 3 meses) garrapatas de animales domésticos y sinantrópicos durante el período 2016-2017. Las mismas serán clasificadas taxonómicamente, mediante el uso de lupa estereoscópica y claves taxonómicas de referencia. Se realizará conjuntamente una inspección de posibles sitios donde podrían encontrarse garrapatas en el interior y cercanías de las viviendas. Los propietarios serán encuestados con el fin de recopilar datos acerca de los hábitos de los animales y los conocimientos que ellos presenten respecto de estos ectoparásitos. Los datos obtenidos se analizarán de manera descriptiva y se calculará la prevalencia de garrapatas, la abundancia relativa media y la intensidad media parasitaria, así como el nivel de infestación ambiental.

## CINÉTICA DEL BIOFILM DE *STREPTOCOCCUS EQUI* SUBSP. *EQUI*

Graciano, L<sup>1,2</sup>; Lanza, N<sup>1</sup>; Muñoz, A<sup>1</sup>; Guida, N<sup>1</sup>; Bustos CP<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Enfermedades Infecciosas. <sup>2</sup>Concurrente en Investigación, <sup>3</sup>Becaria Postdoctoral CONICET. Financiamiento: Proyecto UBACyT 20020130100299BA

El biofilm es una comunidad de células bacterianas que crecen envueltas en una matriz extracelular (MEC) producida por ellas mismas y que está adherida a una superficie, lo que le permite resistir condiciones adversas. La MEC o *slime* por lo general, está compuesta por agua y diferentes proporciones de polisacáridos, proteínas, ADN, lípidos, glicolípidos y diversos iones. El desarrollo del biofilm posee varias etapas: la adherencia a una superficie, la proliferación y síntesis de la MEC, la maduración del biofilm y la dispersión de células planctónicas a partir del biofilm maduro. En trabajos previos, se ha estudiado la capacidad productora de biofilm de *Streptococcus equi* subsp. *equi* (*S. equi*). Esta bacteria produce la adenitis equina causando signos respiratorios altos en potrillos y es capaz de permanecer en bolsas guturales y nasofaringe de animales recuperados. La formación de biofilm podría contribuir a la supervivencia de *S. equi* en estos equinos portadores. El objetivo de este trabajo fue estudiar la cinética del biofilm de *S. equi*. Se trabajó con 5 aislamientos del cepario de la Cátedra de Enfermedades Infecciosas con el método del portaobjetos. Se incubaron las cepas en Todd Hewitt broth (THB) con 0,2% de extracto de levadura (EL) y 10% de suero equino y se incubaron con CO<sub>2</sub> *over night*. Luego de diluir cada cultivo 1/10 en THB con 0,2% EL y 10% de plasma equino y colocar 1 ml sobre un portaobjeto nuevo y estéril, se incubaron a 37°C con CO<sub>2</sub> durante 72, 96, 120, 144 y 168 h. Luego de cada incubación, los portaobjetos se lavaron 3 veces con agua destilada, se fijaron durante 1 min con metanol y se tiñeron con Alcian blue 4X (Biopack®) al 2% durante 10 min y violeta de genciana (Britania®) al 4% durante 30 seg. Se observaron en microscopio óptico a 10X, 40X y 100X, clasificándose la agrupación bacteriana como cocos en cadenas, aglomerados pequeños (<100µm), grandes (100-500µm) y gigantes (≥500µm), e identificándose la presencia de polisacárido extracelular (PSE) como una sustancia celeste entre las bacterias. Se observó la formación de aglomerados desde las 96 h identificándose el mayor tamaño entre las 120 y 144 h de incubación. Es interesante destacar que 3 de los aislamientos presentaron una cinética similar, siendo mayor el tamaño y formación de PSE en función del tiempo. Los otros 2 aislamientos presentaron su pico máximo a las 120 h y luego fueron disminuyendo el tamaño de los aglomerados hasta observarse sólo cadenas de cocos a las 168 h. En todos los aglomerados se observó presencia de PSE variando su cantidad según el tiempo de incubación. La capacidad productora de biofilm de *S. equi* ya ha sido evidenciada en sus etapas tempranas, y el presente trabajo permitió identificar una cinética en cuanto a su formación en presencia de plasma, distinguiéndose lo que serían las etapas de proliferación y síntesis de la MEC, maduración y dispersión. Ya que la formación de biofilm permite a las bacterias sobrevivir ante condiciones adversas, se propone continuar con su estudio para cuantificar su producción e identificar los componentes de la MEC.

**ENSAYO SEROLÓGICO PRELIMINAR PARA DETECTAR ANTICUERPOS  
CONTRA *Mycobacterium bovis* Y *Mycobacterium avium* EN ANIMALES  
SILVESTRES AUTÓCTONOS DE LA REGIÓN NORESTE DE ARGENTINA.**

Griffa, N<sup>1</sup>; Martinez Vivot, M<sup>2</sup>; Forlenza, C<sup>1</sup>; Carou, P<sup>1</sup>; Graziati, G<sup>4</sup>; Marfil, Mj<sup>1</sup>; Rosas, C<sup>3</sup>; Peña Martinez, J<sup>3</sup>; Romano, M1; Barandiaran, S<sup>1</sup>

1 – Instituto de Biotecnología, CICVyA – INTA, Hurlingham, Buenos Aires. Argentina. 2 – Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Enfermedades Infecciosas. Buenos Aires, Argentina. 3- The Conservation Land Trust Argentina, Esteros del Iberá, Corrientes, Argentina. 4- Universidad Nacional de Rosario, FCV, Casilda, Santa Fe.

La Reserva Natural Iberá sirve como refugio para varias especies de fauna que se encuentran amenazadas de extinción en el ámbito regional. Dentro de las especies extinguidas de la región se destacan el yaguareté (*Panthera onca*), el pecarí de collar (*Pecari tajacu*) y el tapir (*Tapirus terrestris*) entre otros. Con el fin de asegurar la permanencia de estas especies, promover su recuperación o incluso motivar su retorno a las áreas que antes habitaron, se desarrolló el 'Programa de Recuperación de Fauna Amenazada' por la fundación "The Conservación Land Trust". La tuberculosis es una enfermedad que afecta a distintos mamíferos, tanto animales domésticos como fauna silvestre así también como al hombre. Las técnicas diagnósticas que se encuentran disponibles para emplear sobre un animal vivo son pocas y su sensibilidad y especificidad son muy discutidas. La técnica de ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) tiene como principal ventaja, que no necesita de una muestra representativa de la lesión, muchas veces imposible de conseguir en un animal en pie. Además se obtienen resultados en un corto período de tiempo, lo cual permite la aplicación de medidas de acción rápidas. Igualmente, es una prueba fácilmente reproducible y no requiere que el individuo vuelva a ser capturado para chequear la evolución de la respuesta como en la prueba de intradermoreacción. El objetivo de este trabajo fue evaluar la presencia de anticuerpos contra las principales micobacterias que afectan a animales silvestres de la región Noreste de la Argentina. Se extrajo sangre de 15 pecaríes de collar, tres tapires y un yaguareté. Se tomaron muestras de hisopados bucales profundos de los 15 pecaríes y de los 3 tapires. Del yaguareté se realizó un lavaje endotraqueal. Con los hisopados y el lavaje se realizó la ruta diagnóstica de cultivo bacteriológico seguida de la caracterización de los aislamientos por PCR. Con los sueros se realizó la técnica de ELISA, en la cual se pegó en la placa un extracto total de *M. bovis* y PPDa comercial (PPA3), como anticuerpo se utilizó Proteína G peroxidasa. Se observó 2 sueros positivos, sin diferencia significativa en el título de anticuerpos contra las dos micobacterias estudiadas. Un suero era de un tapir y otro de un pecarí, ambos resultaron positivos al cultivo a micobacterias atípicas. Los demás sueros fueron negativos al ELISA y al cultivo a excepción de dos pecaríes donde se aislaron dos micobacterias aviares. En dichos animales el ELISA arrojó dos falsos negativos a la PPDa. Si bien este trabajo fue un ensayo primario y siendo la primera vez que se utilizó el ELISA en esta clase de animales en nuestro país, se pudieron detectar 2 animales positivos. Con este ensayo reconocemos la necesidad de mejorar a futuro la especificidad y la sensibilidad de la técnica y elaborar una línea de corte acorde a la especie estudiada aumentando el número de muestras a evaluar. Este trabajo incentiva a seguir investigando el uso de ELISA en este tipo de animales donde el uso de la intradermoreacción está en la mayoría de los casos contraindicada.

## ESTANDARIZACIÓN DE MODELOS *IN VITRO* E *IN VIVO* PARA EVALUACIÓN FENOTÍPICA DE COMPUESTOS REPOSICIONADOS CON ACTIVIDAD ANTI-*TRYPANOSOMA CRUZI*

Gulin, JEN<sup>1,2</sup>; Bisio, M<sup>1,2</sup>; Rocco, DM<sup>1,2</sup>; Altchek, J<sup>1,2</sup>;  
Solana, ME<sup>3</sup>; García-Bournissen, F<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Servicio de Parasitología y Chagas - Hospital de Niños Dr. Ricardo Gutiérrez – Buenos Aires, Argentina.

<sup>2</sup> Concejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

<sup>3</sup> Instituto de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Médica – UBA/CONICET

El aislamiento de poblaciones circulantes de *Trypanosoma cruzi* en diferentes regiones y hospedadores demostró diversidad genética, inmunológica y de sensibilidad a los fármacos. Se caracterizaron las propiedades moleculares y biológicas más relevantes de un aislamiento denominado VD, obtenido a partir de un caso de infección congénita. Posteriormente se realizó el cribaje fenotípico de drogas reposicionadas. Mediante PCR dirigida a secuencias de genes nucleares se determinó que VD pertenece a la Unidad Discreta de Tipificación TcVI. Se estableció la sensibilidad *in vitro* a benznidazol (BZ) y nifurtimox (NFX), siendo la concentración lítica 50 (LC<sub>50</sub>) en tripomastigotes de 6,19 µM para BZ y 7,70 µM para NFX, y la concentración inhibitoria 50 (IC<sub>50</sub>) en amastigotes de 0,24 y 0,66 µM, para BZ y NFX respectivamente. Se estudió el curso de la infección aguda en ratones hembra BALB/c infectadas con 500 tripomastigotes vía intraperitoneal (ip) y la respuesta al tratamiento con BZ o NFX (ambas a 100 mg/kg/día; 20 días vía oral). La parasitemia máxima promedio en el grupo no tratado (NT) fue de 1,54x10<sup>6</sup> tripomastigotes/mL, mientras que el tratamiento con BZ la redujo en un 88,4% y el NFX en un 93,5%. La sobrevida en el grupo NT fue de 6% y en los grupos tratados, de 100%. Finalizado el tratamiento, los animales sobrevivientes fueron inmunosuprimidos con ciclofosfamida (CYP, 200 mg/kg) ip. La tasa de reactivación en el grupo tratado con BZ fue 66% (8/12) y 50% (6/12) en el grupo tratado con NFX. En un sistema de cribado fenotípico *in vitro*, se evaluaron 23 compuestos a una concentración fija (10 µM) sobre amastigotes y tripomastigotes, estableciéndose el porcentaje de actividad relativa (AR) comparado con BZ y NFX. Quince compuestos exhibieron al menos un 50% de AR, para los que se obtuvo la CL<sub>50</sub>, CI<sub>50</sub>, y en simultáneo, la citotoxicidad sobre células eucariontes. Miltefosina (MLT) y pirimetamina (PYR) presentaron valores de CI<sub>50</sub>= 0,127 y 0,563 µM respectivamente, justificando continuar su evaluación en el modelo murino. Los animales fueron infectados y tratados con MLT a 25, 50, 75 y 100 mg/kg, o con PYR (50 mg/kg) durante 20 días por vía oral. MLT produjo una disminución de la parasitemia dosis dependiente, con 100% de supervivencia en los grupos tratados a partir de 50 mg/kg. Los ratones con parasitemia negativa fueron inmunosuprimidos con CYP, registrándose una reagudización en el 100% de los ratones tratados con MLT. PYR no tuvo efecto sobre la parasitemia y la mortalidad fue de 100%. Estos resultados permitieron definir al aislamiento como una cepa caracterizada y utilizarla en modelos *in vitro* e *in vivo* estandarizados para evaluar la actividad tripanocida de varios compuestos. La MLT tendría un efecto parasitostático mientras que PYR no mostró actividad *in vivo*. Se continuará con estudios en combinación con BZ o NFX y con el cribado de más compuestos candidatos.

## COMPARACION DE METODOS DE PROCESAMIENTO DE MATERIA FECAL PARA LA MEJORA DEL DIAGNOSTICO DE PARATUBERCULOSIS

Hermida, H<sup>1</sup>; Colavecchia, S<sup>1</sup>; Mundo, S<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Inmunología, Buenos Aires, Argentina.

La paratuberculosis o enfermedad de Johne es una infección crónica caracterizada por una enteritis progresiva grave con diarrea intermitente, pérdida de peso y caquexia que lleva usualmente a la muerte. El agente etiológico es *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) que afecta a los rumiantes. El ganado se infecta principalmente a edad temprana por la ingestión de materia fecal, leche o calostro contaminados con MAP. Nuestro desafío es la identificación de animales en etapa subclínica debido a que excretan MAP intermitentemente al ambiente. El cultivo bacteriológico con la posterior identificación bacteriana por PCR es considerado por la OIE como método diagnóstico de referencia. Posee una sensibilidad del 50% y una especificidad del 100%. El riesgo de contaminación y el tiempo de incubación (6 meses) lo convierten en una práctica engorrosa. La aplicación de PCR presenta ciertos inconvenientes, como el efecto inhibitor de las muestras de materia fecal y la variable cantidad de MAP presente en las muestras. El objetivo de este trabajo es desarrollar una técnica de separación inmunomagnética de MAP a través de la aplicación de anticuerpos específicos en muestras de materia fecal a fin de evitar la interferencia en la identificación bacteriana por PCR. En una primera etapa se seleccionarán los anticuerpos que reconozcan MAP mediante citometría de flujo. Se utilizarán esos anticuerpos para la separación inmunomagnética y se realizarán PCR y PCR tiempo real. Se evaluará el límite de detección en materia fecal infectada experimentalmente con MAP (ATCC 19698) o de muestras provenientes de establecimientos positivos. Se compararán los resultados obtenidos de nuestra técnica con un kit de extracción de ADN comercial. Nos proponemos mejorar la identificación de MAP a partir de materia fecal prueba que confirma la infección.



## IMPACTO DEL MANEJO DE LA MAJADA EN LA TRANSMISIÓN DE LA STRONGYLOIDOSIS OVINA. ANÁLISIS DE TRES ESTABLECIMIENTOS DEL SUR DE CORRIENTES

Illanes, F<sup>1</sup>; Niño Uribe, A<sup>1;2</sup>; Pruzzo C<sup>1</sup>; Romero J<sup>1</sup>

1. CEDIVE, FCV, UNLP.
2. CONICET.

Las trichostrongylosis son una de las principales limitantes sanitarias para las explotaciones ovinas en el mundo y especialmente en la zona estudiada. El ciclo de *Strongyloides papillosus* difiere al común de los ciclos de los trichostrongylidos (homogónico-heterogónico). Las larvas infectantes, presentes en el suelo, ingresan al huésped atravesando la piel, se diseminan vía hemática hasta los pulmones, desde allí se trasladan a la boca, donde finalmente son deglutidas para transformarse en hembras adultas en el intestino delgado (los machos desarrollan en el medio ambiente). Este ciclo se ve favorecido por condiciones de hacinamiento, clima cálido y húmedo. Parasitosis severas se asocian a diarrea sanguinolenta y lesiones pulmonares. Su epidemiología no ha sido muy estudiada en el país, por lo que se conoce poco acerca de la dinámica de infestación en establecimientos comerciales. En consecuencia, el objetivo de este estudio es evaluar la influencia climatológica y de manejo, sobre la transmisión de *Strongyloides papillosus*, en los años 2013, 2014 y 2015, en tres establecimientos de Curuzú Cuatiá, Corrientes. Se realizaron necropsias mensuales de 2 corderas de recría (6 a 18 meses de edad) para cuantificar la carga parasitaria intestinal. Los individuos seleccionados no estuvieron expuestos a antiparasitarios al menos por 60 días previos al sacrificio. La diferencia entre los distintos manejos estuvo principalmente asociada a la relación bovino:ovino (Establecimiento “A”: 1:2.; Establecimiento “B”: 1:2, con encierro nocturno y Establecimiento “C”: 1:1), ya que la carga animal por ha fue similar en los tres casos (0,7 EV/ha). Se evaluó temperatura mínima media mensual, máxima media mensual, media mensual, precipitaciones mensuales, días de precipitaciones, heladas y humedad media, según datos registrados por el Servicio Meteorológico Nacional. Se realizó lavaje intestinal y conteo de parásitos en todos los ovinos sometidos a necropsia. No se encontraron diferencias climatológicas estadísticamente significativas ( $P < 0,05$ ) en el período estudiado. Esto permite asumir que no hubo variabilidad climatológica entre los años. Los recuentos de parásitos intestinales fueron bajos o nulos para los manejos “A” y “C”, mientras que el establecimiento “B” presentó aumento invernal de la parasitosis, con conteos de hasta 2600 parásitos. Los resultados obtenidos se analizaron mediante ANOVA (log10), mostrando diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre el establecimiento “B” y los establecimientos “A” y “C”. Esto permite establecer una fuerte asociación entre el hacinamiento y la transmisión parasitaria; lo que es coincidente con la bibliografía consultada. A pesar de los altos recuentos parasitarios invernales observados en el establecimiento “B”, no se observaron signos clínicos en la majada asociados a este parásito, lo que sugiere un bajo poder patógeno.

## **TERAPIA FÍSICA: ECOGRAFÍA MUSCULOESQUELETICA Y VALORACIÓN CLÍNICA EN EL TRATAMIENTO DE LUXACIÓN ROTULIANA CONGÉNITA EN CANINOS**

\*Jurado, A.; Fort, S; \*Mercado, M; \*\*Bruzzone, C; \*\*Bosco, A; \*\*\*Chan, D; \*Pallares, C.

\*Universidad de Buenos Aires, Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Unidad de Fisioterapia y Rehabilitación en Pequeños Animales, Cátedra de Enfermedades Quirúrgicas. . \*\* Universidad de Buenos Aires, Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Unidad de Cirugía. \*\*\*Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Bioestadística.

La luxación rotuliana congénita es una de las enfermedades del aparato locomotor más frecuentes en caninos de razas del tipo toy. Los signos clínicos son variados y dependen del grado de luxación, entre ellos claudicación, imposibilidad de realizar movimientos normales, atrofia de los músculos por el desuso. El tratamiento puede ser quirúrgico si el grado de luxación lo amerita, acompañado con un tratamiento de Terapia Física y Rehabilitación del miembro afectado. El objetivo de este trabajo fue valorar dos protocolos de Fisioterapia y Rehabilitación para el tratamiento post resolución quirúrgica de luxación rotuliana congénita de grado IV mediante herramientas de valoración clínica y control evolutivo con ultrasonografía músculo esquelética. En la Unidad de Fisioterapia del Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Buenos Aires se realizó el tratamiento de 12 pacientes caninos post resolución quirúrgica de luxación rotuliana congénita de grado IV. Se establecieron aleatoriamente dos grupos de 6 caninos. En la sesión n°1 todos los pacientes tenían dolor grado 3. En el grupo I se utilizó el protocolo de Electroanalgesia (TENS), Campos Magnéticos de baja frecuencia (CMP), Masoterapia (10 min) y ejercicios de movilidad pasiva de flexión y extensión. En grupo II se realizó TENS, Masoterapia (10 min) y ejercicios de movilidad pasiva flexión y extensión. El equipo de electroanagesia (TENS) marca SEAKIT, se aplicó en el miembro afectado durante 20 minutos por cada sesión y el equipo de camilla de Campos Magnéticos Pulsátiles de baja frecuencia marca VIP durante 40 minutos en cada sesión. En total se realizaron 15 sesiones con una frecuencia de dos veces por semana. Para realizar el control evolutivo de los pacientes se midieron los siguientes parámetros a fin de tener una valoración clínica: Escala de Dolor Descriptiva Simple, Goniometría y Circunferencia Muscular. Para realizar ultrasonografía de los pacientes caninos se utilizó un ecógrafo, marca SonoScape A6V/A5V con transductor lineal de 7,5-12 MHz. En todas las sesiones se procedió a exploración ecoanatómica y valoración de funcionalidad dinámica de la articulación para monitorear la evolución clínica. Para el análisis estadístico se utilizó una prueba de Wilcoxon para datos apareados, particionando la prueba por tratamiento. En este trabajo se pudo observar que los caninos del Grupo I mejoraron notablemente la extensión de la rodilla en menor número de sesiones en comparación con los del Grupo II. También se evaluó con ecografía menor formación de adherencias fibrosas y en la valoración dinámica de la articulación, en tiempo real y con movimientos pasivos, se observó mayor sincronismo en los movimientos en los pacientes pertenecientes al Grupo I. Resultando el tratamiento del Grupo I ser más eficaz que el utilizado en el Grupo II, ya que mejoró notablemente la extensión de la rodilla hubo menor formación de adherencias fibrosas y se obtuvo mayor sincronismo en los movimientos de dicha articulación.

## ESTUDIO DE LA DINÁMICA DE ACTIVACIÓN DE RAC POR HEREGULINA EN CÉLULAS DE CÁNCER DE MAMA

Lara, A; González, A; Wertheimer, E

Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos, Universidad de Buenos Aires-CONICET

La activación de receptores ErbB por ligandos como heregulina (HRG) lleva a un aumento de la activación de Rac, una RHO-GTPasa ampliamente involucrada en procesos tumorales, y promueve migración en células de cáncer de mama. Los resultados de un *microarray* de cDNA mostraron que HRG induce la expresión de TGF $\beta$ 2 en la línea celular cáncer de mama T47D. De hecho, las citoquinas de la familia de TGF $\beta$  están implicadas en migración celular y metástasis. El objetivo de este trabajo fue estudiar la dinámica de activación de Rac que lleva a la migración de células de cáncer de mama inducida por HRG. Nuestra hipótesis de trabajo es que para que ocurra la activación de Rac, y la subsiguiente migración celular inducida por HRG, es necesaria la activación de distintas vías de señalización que convergen en Rac. Para desafiar nuestra hipótesis, se analizaron los niveles de activación de Rac en células T47D por ensayos de *pulldown* de Rac activado luego del agregado de HRG a distintos tiempos. A su vez, se analizaron los niveles de mRNA de TGF $\beta$ 2 por PCR cuantitativa y se realizaron ensayos de cierre de surco para evaluar migración celular. Heregulina es capaz de inducir la activación de Rac con un pico a los 5 minutos que se mantiene hasta los 60 minutos. A partir de dicho tiempo, la activación disminuye significativamente hasta llegar a un 37% del basal a las 6 hs. Cuando HRG es removida del medio al cabo de 5 minutos de incubación (por lavado de las células y agregado de medio fresco), la activación de Rac a los 60 minutos se ve significativamente disminuida con respecto a un control de células mantenidas con HRG. Cuando HRG es removida a los 15 minutos, la remoción del medio condicionado no produce cambios con respecto al control en los niveles de activación de Rac. Sin embargo, la remoción del medio condicionado luego de 30 minutos lleva a la inactivación de Rac que no se recupera por el agregado de HRG exógena. Se determinó que la expresión de TGF $\beta$ 2 aumenta significativamente luego de 30 minutos con HRG, alcanzando un pico a las 2 horas, al cabo de las cuales disminuye su expresión hacia las 6 hs de incubación. Además, TGF $\beta$ 2 es capaz de inducir migración en células de cáncer de mama MFC7 de forma dosis-dependiente. Concluimos que HRG es necesaria durante los primeros 5 minutos para la activación inicial de Rac. Entre los 5 y los 15 minutos de incubación con HRG se desencadenan procesos que ya no dependen de la presencia de la misma para el mantenimiento de la activación de Rac. Sin embargo, pasados 15 minutos, las células producen factores que actúan de forma autocrina y que son necesarios para el mantenimiento de la activación de Rac iniciada por HRG. De hecho, HRG no es capaz de compensar la falta de dichos factores. La curva de tiempo de expresión de TGF $\beta$ 2 reveló que existe una relación secuencial entre el pico de activación de Rac y el máximo de expresión de TGF $\beta$ 2 inducido por HRG. Por lo tanto, proponemos que dicha citoquina podría ser necesaria para el mantenimiento de las funciones desencadenadas por HRG.

## EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA FUNCIONAL DE LA IgG<sub>1</sub> E IgG<sub>3</sub> DE LLAMA (LAMA GLAMA) CONSERVADAS A DIFERENTES TEMPERATURAS

Lastra Y; Caggiano, N; De Simone E

Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Fisiología Animal.

Los miembros de la familia *Camelidae* presentan en el suero una importante fracción de Igs que no poseen cadenas livianas, siendo las mismas de clase IgG (denominadas HCAs, por sus siglas en inglés Heavy Chain Antibodies). Inicialmente el hallazgo de estos anticuerpos derivó en importantes estudios sobre la estructura y utilidad biotecnológica de los mismos. Actualmente se conocen al menos 3 subclases de IgG (IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub> e IgG<sub>3</sub>), de los cuales la IgG<sub>2</sub> e IgG<sub>3</sub> son de tipo HCAs, mientras que la IgG<sub>1</sub> mantiene la estructura convencional. El dominio variable de los HCAs (VHH) es el menor fragmento con actividad de anticuerpo que se ha podido producir de manera recombinante. Los fragmentos VHH han sido ampliamente descritos presentando virtudes tales como una notable estabilidad frente a estímulos desnaturizantes tanto físicos como químicos. A pesar de la notable estabilidad que pueden presentar los dominios VHH producidos de manera recombinante, la IgG<sub>3</sub> entera pudiera no ser más resistente que la IgG<sub>1</sub> cuando se la somete a situaciones desnaturizantes. El objetivo de este trabajo fue evaluar mediante ELISA las respuestas de la IgG<sub>1</sub> e IgG<sub>3</sub> de llama conservadas a diferentes temperaturas. En este trabajo se realizó un esquema de inmunización en una llama con seroalbúmina bovina (SAB) y se comprobó la respuesta serológica por ELISA. Posteriormente se purificaron las fracciones de IgG<sub>1</sub> e IgG<sub>3</sub> mediante cromatografía de afinidad con Proteína G. Luego se incubó la IgG<sub>1</sub> e IgG<sub>3</sub> a diferentes temperaturas (T° ambiente, 5°C, y 37°C) retirando alícuotas cada 3 días durante 36 días. Las alícuotas se conservaron a -20°C hasta su procesamiento. Posteriormente se evaluó la respuesta frente a SAB a las diferentes temperaturas y tiempos mediante un ELISA. Se realizó un análisis estadístico de t de Student apareado entre ambos grupos. Al comparar la muestras de IgG<sub>1</sub> e IgG<sub>3</sub> apareadas según el tiempo que estuvieron incubadas se observó que a 37°C la IgG<sub>3</sub> conserva mejor la actividad (p<0,05), siendo que hasta el día 9 la IgG<sub>3</sub> mantiene más del 50% de su actividad. Con las muestras incubadas a T° ambiente se observó también que la IgG<sub>3</sub> conserva mejor su actividad (p<0,01) siendo que mantiene el 50% de actividad hacia el día 18. Por último en las muestras conservadas a 5°C también se observó una marcada diferencia en favor de la IgG<sub>3</sub> (p<0,001), conservando la actividad por más de 30 días. A modo de conclusión podemos afirmar que al igual que ocurre con el fragmento variable VHH producido recombinante, cuando se analiza la actividad de la IgG<sub>3</sub> esta conserva mejor su funcionalidad luego de diferentes condiciones de temperatura respecto de los anticuerpos convencionales. Este es un motivo para considerar a la hora de producir anticuerpos enteros de manera policlonal tanto para el diagnóstico como para el tratamiento.

*DIVERSIDAD Y ESTRUCTURA TRÓFICA DE JUVENILES Y PEQUEÑOS PECES EN UNA LAGUNA DE LA PLANICIE DE INUNDACIÓN DEL RÍO PARANÁ, ARGENTINA.*

Llamazares Vegh, S<sup>1</sup>; Fuentes, C<sup>2</sup>; Volpedo, A<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA-UBA-CONICET). Buenos Aires, Argentina

<sup>2</sup>Laboratorios de la Dirección de Pesca Continental, Ministerio de Agroindustria de la Nación, Buenos Aires, Argentina.

<sup>3</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Centro de Estudios Transdisciplinarios del Agua (CETA-UBA), Buenos Aires, Argentina.

Los lagos en la llanura de inundación son áreas clave en el estudio de la ecología trófica de las especies migratorias, ya que los peces las utilizan para crecer y alimentarse. Este estudio describe la estructura y variación temporal de la comunidad de juveniles y pequeños peces en la laguna "El Espinillo" (Entre Ríos). Los peces fueron capturados entre septiembre de 2015 y agosto de 2016 con redes de cerco y de enmalle de diferentes tamaños de malla (15 m de largo por 2 m de alto, malla de 2, 5, 10, 15, 20, 25 y 30 mm). Las redes se colocaron cerca de la orilla y su ubicación se mantuvo durante todo el estudio. Los peces capturados fueron congelados y transportados al laboratorio para su identificación. La recopilación de datos se centró en aspectos de diversidad, similitud, dominancia y alimentación. Estos parámetros se estimaron mediante la abundancia de especies que muestran al menos 5 individuos capturados y 2 ocurrencias. La estructura taxonómica fue estimada con datos de ausencia-presencia de la especie. Se utilizó el índice de Jaccard para calcular una matriz de similitud taxonómica entre los 11 muestreos, y se realizó un análisis de agrupamiento para clasificar los mismos de acuerdo con su similitud taxonómica. La clasificación de la dieta de la especie se estimó a partir de referencias bibliográficas. Las densidades relativas de cada grupo trófico se utilizaron para comparar la estructura trófica entre estaciones. El análisis se realizó con el software PRIMER. Se registraron un total de 10.613 peces de 61 especies. A lo largo del año de estudio, las especies dominantes, en abundancia relativa y frecuencia de ocurrencia, fueron *Astyanax* spp., *Cyphocharax voga* y *Acestrorhynchus pantaneiro*. Los conjuntos de peces mostraron cambios temporales por riqueza específica y grupos tróficos. La riqueza específica fue estadísticamente mayor en verano y primavera (Kruskal wallis,  $P < 0,01$ ). Durante la primavera se registraron más especies exclusivas, tales como *Hoplias malabaricus* y *Oligosarcus jenynsii*. El análisis de cluster agrupó las muestras de acuerdo con las estaciones del año. La estructura trófica de los conjuntos se basó en la densidad de 48 especies. Los alguivoros aparecieron en baja densidad. Sin embargo, la estructura trófica de los conjuntos varió según la estación. Las especies piscívoras estuvieron mejor representadas en el otoño, mientras que los zooplanctívoros aumentaron en la temporada de primavera. Ambos grupos tróficos mostraron un predominio significativo en abundancia relativa (Kruskal wallis,  $P < 0,01$ ). Estos resultados evidencian la importancia de los cuerpos de agua próximos a grandes ríos para la conservación de la diversidad y la estructura de las comunidades de peces.

# INFLUENCIA DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DEL RÍO DE LA PLATA Y SU ROL SOBRE LA BIOTRANSFERENCIA DEL MERCURIO A LA RED TRÓFICA

Llorente, CG<sup>1</sup>; Molina, DA<sup>1</sup>; Zorzoli, PA<sup>1</sup>; Volpedo, AV<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Hidrografía Naval, Ministerio de Defensa

<sup>2</sup> Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Instituto de Investigación de Producción Animal (INPA-UBA-CONICET).

El mercurio (Hg) es un elemento altamente tóxico presente en el ambiente en trazas, teniendo tanto origen natural (erupciones volcánicas o volatilización del mercurio en la biota, eliminación natural o incendios), como origen antropogénico (minería, industria, actividad agropecuaria y otras). La mayor probabilidad de ingreso del Hg a la red trófica acuática está dada principalmente por la probabilidad de que este elemento sea captado por microorganismos, metilarlo y así biotransferirlo y biomagnificarse en la red trófica. Es por ello que resulta de importancia evaluar si un cuerpo de agua presenta las condiciones propicias para que el Hg presente en el ambiente ingrese a la red trófica. En este sentido el objetivo de este trabajo fue determinar los factores que influyen la presencia de cloruro de mercurio (pH y cloruros) y de metilmercurio (pH, materia orgánica, oxígeno disuelto, sulfatos y temperatura) en agua de la cuenca baja del Río de la Plata. Se realizaron 7 campañas estacionales entre 2010 y 2012, donde se colectaron muestras de agua superficial a los 500, 1.500 y 3.000 metros de la costa en 8 transectas a lo largo de la Franja Costera Sur comprendida entre Palermo y Punta Lara. Se determinaron los siguientes parámetros: la demanda bioquímica de oxígeno (mg O<sub>2</sub>/l) (DBO), cloruros (mg Cl<sup>-</sup>/l) y sulfatos (mg SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>/l), todas las determinaciones fueron realizadas por métodos estandarizados del Standard Method of Water and Wastewater, previamente verificados. Se calculó en las áreas oxigenadas del Río, las especies predominantes del Hg, teniendo en cuenta las constantes de equilibrio de cada una de las especies, focalizando en aquellas especies que presentan posibilidad de entrar a la red trófica, las cuales son en orden de mayor probabilidad a menor el dihidroxomercurio (II), seguido por el monocloromonohidroxomercurio (II) y por último el dicloromercurio (II). Estos datos fueron analizados en conjuntos que comprenden: los resultados a las diferentes distancias de la costa de las diferentes transectas y por separado cada una de las descargas; por medio de estadística descriptiva y métodos de análisis de varianza no paramétricos. Los resultados evidencian que a excepción de la descarga de Berazategui, todas las demás descargas presentaban valores de oxígeno disuelto más compatibles con ambientes anóxicos que oxigenados y que la materia orgánica en estas zonas es relativamente baja con valores de DBO menores a 24 mgO<sub>2</sub>/l, con promedios de 7 mgO<sub>2</sub>/l. Es por esta razón que, los cálculos de las especies predominantes del mercurio se realizaron con los datos a las diferentes distancias de la costa. Evidenciándose que no hay diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en la distribución de las especies mercuriales a las diferentes distancias de la costa. Si bien se observó una predominancia del Hg(OH)<sub>2</sub> con un valor promedio del 68,4%, el HgClOH con un valor promedio del 25,6% y el HgCl<sub>2</sub> con un valor promedio del 5,9%. Estos resultados permiten suponer que el proceso de biotransferencia del Hg por microorganismos estaría altamente favorecido en las aguas del Río de la Plata. Sin embargo, habría que evaluar las especies del Hg presentes en los sedimentos, a fin de verificar dicha situación.

## ESTUDIO DE SITUACIÓN DE LA CONTAMINACIÓN POR GEOHELMINTOS ZONÓTICOS EN ESPACIOS PÚBLICOS Y RECREATIVOS DE LA CIUDAD AUTÓNOMA DE BUENOS AIRES, 2017-2018

Loiza, Y<sup>1,2</sup>; Repetto, S<sup>3</sup>; Cardillo, N<sup>1,4</sup>

1Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Parasitología y Enfermedades Parasitarias. Buenos Aires, Argentina. 2Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Salud Pública. Buenos Aires, Argentina. 3Universidad de Buenos Aires. Facultad de Medicina. Departamento de Microbiología, Parasitología e Inmunología. Buenos Aires, Argentina. 4 CONICET. Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Instituto de Investigaciones en Producción Animal. (INPA). Buenos Aires, Argentina.

Las geohelmintiasis son un grupo de enfermedades parasitarias donde el suelo es la principal vía de transmisión. *Toxocara* spp., *Ancylostoma* spp. y *Strongyloides stercoralis* conforman el grupo de las geohelmintiasis zoonóticas. Los huevos y larvas de estos parásitos son eliminadas con las heces al ambiente y sobreviven en el suelo tornándose infectantes para los animales y humanos que toman contacto con él. Las poblaciones humanas de mayor riesgo son aquellas con bajos recursos y condiciones sanitarias deficientes y los niños en edad pre-escolar y escolar. En espacios públicos donde los animales tienen acceso y pueden eliminar al ambiente huevos de parásitos a través de las heces, existe un mayor riesgo de contacto con suelos contaminados. El objetivo de este trabajo es describir el estado de situación de la contaminación fecal de las plazas de la CABA con énfasis en el estudio de geohelminos zoonóticos e identificar si existe un patrón de distribución por región socioeconómica. Se realizó una prueba piloto para evaluar la contaminación fecal y la distribución del cercado en los diferentes sectores de las plazas de la CABA y el grado de parasitosis de las heces de caninos y/o felinos. Se estratificó la CABA según el NBI. Se seleccionaron aleatoriamente plazas de los diferentes estratos y se recolectaron todas las muestras de materia fecal frescas que se encontraron en el suelo al momento del recorrido, clasificándolas según el área donde se hallaban: canil/espacio de juegos/general. Las mismas se procesaron individualmente mediante las técnicas de Bembrook modificada y Baermann en el laboratorio del área de Parasitología y Enfermedades Parasitarias FCV-UBA. El área de mayor contaminación fecal fue el área general de la plaza (188), encontrándose muy pocas muestras en el área de juegos y en los caniles (7 y 21 respectivamente). La prevalencia general de parasitosis fue de 27,31 % (59/216). Las prevalencias de geohelminos halladas fueron 19,44% (42/216) para *Ancylostoma* spp. y 2,78% (6/216) para *Toxocara* spp. Se encontraron además otros géneros parasitarios y en el 31,67% de las muestras positivas (19/59) se presentaron asociaciones parasitarias. De acuerdo con estos resultados preliminares se espera encontrar diferencias en el grado de contaminación fecal y el nivel de cercado de las diferentes áreas en las que se dividen las plazas de la CABA. Además se espera hallar materia fecal contaminada con al menos un género de geohelminos zoonóticos en el total de las plazas analizadas, con diferencias significativas en la prevalencia según la estratificación por NBI.

El presente estudio es subsidiado mediante Proyecto UBACyT 2014- 2017 (cód.20020130300003BA) y Proyecto PICT-2013-0965.

## USO DE DROGAS ANTIINFLAMATORIAS NO ESTEROIDEAS POR VÍAS SISTÉMICA Y LOCAL EN CIRUGÍAS MENORES EN CORDEROS

Lopez, E<sup>1</sup>; Montoya, L<sup>1</sup>; Otero, I<sup>1</sup>; Passini, S<sup>1</sup>; Robles, S<sup>1</sup>; Monfrinotti, A<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Farmacología. Buenos Aires, Argentina

El uso de drogas antiinflamatorias no esteroideas (AINES) como terapia analgésica en protocolos quirúrgicos se encuentra ampliamente difundido en pequeños animales. Debido a las diferencias entre especies estos resultados no son extrapolables a la especie ovina, en la cual el uso de AINES se estudió en menor medida. Sin embargo, su aplicación podría resultar beneficiosa en maniobras zootécnicas, disminuyendo el dolor, el componente inflamatorio, el estrés y de esta forma mejorar las condiciones de bienestar animal. El objetivo de este estudio es evaluar la influencia de los AINES en maniobras álgidas llevadas a cabo en procedimientos quirúrgicos de rutina en corderos, como la orquidectomía con elastrador (ORQE). Se utilizaron 26 corderos machos ( $21,58 \pm 5,19$  kg) al destete pertenecientes al tambo de ovinos de la Facultad de Cs Veterinarias UBA (CICUAL 2016/43). Dichos corderos fueron separados en forma aleatoria en cuatro grupos (A, B, C, D). Grupo A: control sin castración (n=9); Grupo B: ORQE (n=4); Grupo C: ORQE con AINE local vía subcutáneo escrotal (SCe) (n=7); Grupo D: ORQE con AINE sistémico vía intramuscular (IM) (n=6). El AINE administrado fue Ketoprofeno a dosis de 3 mg/kg IM/ SCe. Al grupo C se le administró el AINE posterior inmediato a la colocación de la banda. Al grupo D se le administró el AINE 20 minutos previos a la colocación de la banda. Durante la experiencia se evaluaron reacciones de comportamiento, indicadores de dolor, palpación escrotal y temperatura. Se registró el peso de los corderos y reacciones a la palpación escrotal previo a la experiencia y semanalmente durante 3 semanas posteriores a la misma, realizando un seguimiento de la acción del elastrador hasta que se completó la maniobra. Los resultados de chequeos sanguíneos tanto hematológicos como bioquímicos, previos y posteriores al estudio, se encontraron dentro de los parámetros normales en todos los corderos. De las variables estudiadas, la temperatura no demostró diferencias estadísticas significativas, mientras que sí se hallaron diferencias significativas en las variables palpación escrotal y diferencia de peso a la cuarta semana de realizada la maniobra, demostrando esta variable un mayor aumento de peso en los grupos A, C y D en relación al grupo B. El orden decreciente de dolor a la palpación escrotal resultó ser A-C-D-B. El Score Global Total (SGT) mostró diferencias significativas entre los grupos hasta las 6 horas posteriores a la maniobra, resultando los grupos D y B los que demostraron mayores reacciones de dolor en comparación con los grupos A y C. Según los resultados obtenidos el uso de AINES en ORQE sería beneficioso para el bienestar animal al aportar analgesia y podría mejorar la ganancia de peso al atenuar los efectos deletéreos del estrés propio de la maniobra.



## DESARROLLO DE CONTROLES POSITIVOS EN LA EVALUACIÓN DE LA FRAGMENTACIÓN DEL ADN ESPERMÁTICO BOVINO. RESULTADOS PRELIMINARES.

López, MS<sup>1</sup>; Ghirardosi, MS<sup>1 2</sup>; González, LO<sup>1 2</sup>;  
Ferrari, MR<sup>1 2</sup>; Cisale, H<sup>1 2</sup>; Fischman, ML<sup>1 2</sup>

(1) Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Física Biológica. Buenos Aires, Argentina.

(2) Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA). Buenos Aires, Argentina.

La incorporación de pruebas nucleares al análisis de la calidad seminal permitiría la detección temprana de muestras portadoras de defectos no compensables y, por lo tanto, de toros subfértiles. En nuestro laboratorio se desarrolló una técnica alternativa para evaluar la integridad del ADN espermático bovino, sencilla y económica, basada en la mayor susceptibilidad a la desnaturalización *in situ* que presentan los núcleos espermáticos fragmentados (F). Los núcleos no fragmentados (NF) presentan un patrón caracterizado por la presencia de alteraciones morfológicas, compatibles con una alta respuesta a la decondensación. La cromatina se tiñe de color rosa (Giemsa), pudiendo observarse desde un aspecto homogéneo y laxo, hasta otro muy heterogéneo con presencia de vacuolas. Los núcleos F se observan de tamaño similar o menor al normal, morfología conservada, aunque con cierta tendencia a la rectangularidad, y cromatina homogénea, que se tiñe de violeta con Giemsa. El objetivo del presente trabajo fue determinar el tratamiento de elección para lograr un control positivo (núcleos F) que permita obtener patrones morfológicos repetibles y claramente diferenciables de los núcleos NF. Las muestras fueron sometidas a diferentes tratamientos, ya probados en numerosas especies y aplicados en técnicas similares: 1) Incubación con peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), 30 minutos, a 4°C; 2) Incubaciones a 100°C, durante 30 y 60 minutos y 3) Incubación con hidróxido de sodio (NaOH) 0,03 M, 30 minutos, a temperatura ambiente. Se realizaron tres repeticiones de cada tratamiento, en tres oportunidades con muestras provenientes de distintos individuos y con diferentes diluyentes. Posteriormente, los controles fueron tratados con el protocolo de la técnica en desarrollo. En todos los tratamientos, los núcleos observados presentaron un patrón morfológico similar a los núcleos F de la muestra. Entre el 4 y el 15% de los núcleos tratados con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> presentaron aspecto decondensado. Los tratamientos con calor no pudieron emplearse en muestras congeladas con diluyente a base de yema de huevo ya que su coagulación impidió la lectura. El tratamiento con NaOH presentó el 100% de núcleos con morfología conservada, sin pérdida excesiva de material. Podemos concluir que el tratamiento con NaOH sería el de elección para obtener controles positivos en esta prueba.

## EFFECTOS DEL COCULTIVO DE CÉLULAS EPITELIALES OVIDUCTALES PORCINAS SOBRE LA CALIDAD Y DESARROLLO DE EMBRIONES PORCINOS PRODUCIDOS *IN VITRO*

Lorenzo, MS<sup>1,2</sup>; Bertonazzi, A<sup>2</sup>; Lombardo, DM<sup>2</sup>

<sup>1</sup> CONICET <sup>2</sup> Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal, Cátedra de Histología y Embriología. Buenos Aires, Argentina.

En la especie porcina, los porcentajes de blastocistos obtenidos son bajos y los embriones obtenidos son de menor calidad en comparación con otras especies, debido, en gran parte, a que las condiciones de cultivo embrionario *in vitro* resultan subóptimas en relación al ambiente *in vivo*. El oviducto interviene en numerosas funciones reproductivas, entre ellas el desarrollo embrionario temprano. Las células epiteliales oviductales sintetizan macromoléculas que son secretadas a la luz, generando un ambiente adecuado para las funciones oviductales. El objetivo de este trabajo consiste en evaluar el efecto del cocultivo de embriones porcinos producidos *in vitro* con células epiteliales oviductales porcinas (CEOP) sobre el desarrollo embrionario *in vitro* y la calidad de los embriones obtenidos. En una primera instancia, se evaluaron diferentes metodologías para la obtención de CEOP así como también distintos sistemas y condiciones de cultivo. Se utilizaron oviductos de hembras faenadas en diestro (cuerpos lúteos presentes en ovario) y las células se obtuvieron por presión externa realizada con porta objetos. La suspensión celular se disgregó mecánicamente y se sembró en medio DMEM + F12 suplementado con 20% suero fetal bovino, antibióticos y antifúngico. Se obtuvo un cultivo con células en monocapa y vesículas en suspensión, que mantuvieron su viabilidad por al menos 7 días y el movimiento ciliar luego de 72 h de cultivo. La naturaleza epitelial se verificó por la presencia de cilios en la superficie de las vesículas (observadas con microscopia de contraste de fase) y por inmunocitoquímica (ICQ) con anticuerpos anti caderina E en las células en monocapa. Los ensayos de ICQ se complementaron con anticuerpos anti receptores de estrógenos (ER) y anti receptores de progesterona (PR). El 6,6% ( $\pm 0,06\%$ ) de las células (n= 1556) expresó ER nucleares, mientras que el 43,88% ( $\pm 0,017\%$ ) (n= 1796) expresó PR nucleares. A futuro, se procederá a realizar ensayos de cocultivo de embriones con el pasaje 1 de CEOP en monocapa y vesículas de CEOP en suspensión y se evaluarán los porcentajes de desarrollo embrionario. Como parámetros de calidad se utilizarán la cuantificación del número de blastómeras, la evaluación de apoptosis por TUNEL y la determinación de marcadores de pluripotencialidad y proliferación por inmunofluorescencia. El cocultivo de embriones porcinos obtenidos *in vitro* con células epiteliales oviductales porcinas (CEOP) favorecería el desarrollo *in vitro* y la calidad de los embriones obtenidos, al simular el ambiente *in vivo*. El cultivo obtenido podrá ser utilizado no sólo para cocultivo con embriones sino también como modelo para estudiar las interacciones de las gametas y embriones con el oviducto.

## ANATOMÍA FUNCIONAL DEL APARATO MASTICADOR DEL ANTÍLOPE NEGRO, *ANTILOPE CERVICAPRA* (*ARTIODACTYLA, BOVIDAE*)

Lozano, DA; Amigo, L; Alvarez, JM; Götte, M; Blanco, C

Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Anatomía. Buenos Aires, Argentina.

La Familia *Bovidae* está especialmente adaptada a la digestión fermentativa de fibra vegetal; sin embargo, los diferentes componentes dietarios (celulosa, hemicelulosa, lignina y pectina) y las conductas de búsqueda y aprehensión, permite diferenciar dos grupos: ramoneadores (*browsers*) y herbívoros forrajeadores de pastos (*grazers*). El Antílope negro (*A. cervicapra*) es uno de los tantos mamíferos exóticos introducidos en el país. Se encuentra distribuido en varias provincias del territorio nacional, utilizándose principalmente para la producción de carne y para caza deportiva. En el presente trabajo se propone el estudio del aparato masticatorio de esta especie, centrado en la estructura de la cavidad bucal, la dentadura y el desarrollo y ubicación de los músculos de la masticación (masetero, temporal, pterigoideos medial y lateral y digástrico), con el fin de profundizar nuestro conocimiento acerca de la especie y aportar a los productores nacionales información que permita mejorar el hábitat en el que estos animales se encuentran en lo referente a sus preferencias alimentarias. El estudio fue realizado en dos cabezas de *A. cervicapra* adultos machos provenientes de un criadero ubicado en General Rodríguez, Buenos Aires. La conservación durante el transporte y disección se realizó por congelación. Las piezas se donaron a la Cátedra de Anatomía de la Facultad ya congeladas y seccionadas a la altura de la articulación atlanto-occipital. Se trabajó congelando los ejemplares entre sesiones de disección para retrasar los efectos de rancidez, autólisis y putrefacción, evitando la retracción de los tejidos frente a una posible fijación. Se realizó una disección capa por capa de la musculatura, glándulas salivales, vasos y nervios. El aparato hioideo se seccionó y conservó por separado. La lengua y los cartílagos de la oreja de uno de los ejemplares se utilizaron para llevar a cabo un proceso de plastinación. Luego de la disección de componentes blandos se limpiaron las estructuras óseas y se realizaron cinco mediciones de la mandíbula para comprender mejor la biomecánica del aparato masticatorio. Se midió la altura de la rama ( $9,66\pm 0,37$ ), la altura entre el extremo del proceso coronoides y la superficie articular en la cabeza mandibular ( $2,55\pm 0,17$ ), y la altura entre esta última y la superficie oclusal de los molares ( $3,26\pm 0,22$ ), el ancho de la rama, determinado entre el foramen mandibular y el borde caudal ( $2,34\pm 0,22$ ), la longitud desde el borde caudal del ángulo al extremo incisivo ( $16,44\pm 0,25$ ) y desde el borde caudal al foramen mentoniano ( $13,81\pm 0,34$ ). En todos los casos se indica la media  $\pm$  error estándar estimado por bootstrap en centímetros. Los resultados obtenidos fueron comparados con bibliografía existente y material del museo de anatomía de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Buenos Aires. Podemos concluir que esta especie se encuentra en un grado intermedio de diferenciación estando más próxima a las características de los forrajeadores de pastos.

**EFFECTO DEL RESVERATROL SOBRE LA CRIOTOLERANCIA DE  
EMBRIONES BOVINOS PRODUCIDOS *IN VITRO*.  
COMUNICACIÓN PRELIMINAR**

Madrid, S<sup>1</sup>; Urrego, R<sup>2</sup>; López-Herrera, A<sup>1</sup>; Restrepo, G<sup>1,3</sup>; Echeverri, J<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, Grupo de investigación BIOGEM,  
<sup>2</sup>Grupo de investigación INCA-CES, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia,  
Universidad CES, <sup>3</sup>Grupo de investigación GIBA.

La vitrificación, a pesar de ser el método más usado para la criopreservación de embriones en diferentes especies aún presenta efectos deletéreos en las células, principalmente sobre el estado de óxido-reducción, disminuyendo el glutatión reducido (GSH) y aumentando las especies reactivas del oxígeno (ROS). Para contrarrestarlo se ha implementado la suplementación con antioxidantes que pueden proteger a las células de los efectos negativos del estrés oxidativo generado. El objetivo de este plan de tesis es determinar el efecto del antioxidante resveratrol (Resv) sobre la criotolerancia de embriones bovinos producidos *in vitro* sometidos al proceso de vitrificación. Los embriones serán producidos partir de complejos cumulus-ooocito obtenidos de ovarios de hembras sacrificadas, la fertilización *in vitro* se realizará con semen de un toro con fertilidad probada. 20hs post-inseminación los presuntos cigotos se transferirán a medio SOF suplementado con Resv (0, 0.2, 0.5, 1, 5 o 10  $\mu$ M) y se cultivarán hasta el día 7 donde se evaluará la tasa de producción de embriones y el número total de células (NTC) como parámetro de calidad para determinar la concentración óptima durante el cultivo *in vitro* (CIV), la cual se utilizará luego para suplementar el medio de CIV y los medios de vitrificación en los cuales se criopreservarán los embriones de día 7. El efecto del Resv sobre la criotolerancia será determinado en los embriones que luego del atemperado logren reexpandir y alcanzar el estado de blastocisto expandido en los que se evaluará el porcentaje de células apoptóticas, el nivel de ROS, el contenido de GSH, el grado de peroxidación lipídica, la actividad mitocondrial y la producción de radicales superóxido mitocondriales mediante las técnicas fluorescentes de Anexina V, H<sub>2</sub>DCFDA, CellTracker Blue, Bodipy, JC-1 y MitoSOX Red respectivamente. Finalmente se evaluarán posibles cambios en el nivel de expresión de los genes MnSOD, Sirt1, FoxO3A y BCL-XL, relacionados con calidad embrionaria, utilizando el gen RPL15 como gen de referencia. Hasta el momento se ha encontrado que el Resv en altas concentraciones (10  $\mu$ M) durante el CIV disminuye la tasa de producción (23.76%,  $p < 0.05$ ), mientras que las demás concentraciones no afectan significativamente el porcentaje de embriones obtenidos (35.31, 47.6, 40.5, 41.11, 39.36 para 0, 0.2, 0.5, 1 y 5  $\mu$ M de Resv respectivamente). Sin embargo, sí hubo un aumento significativo ( $p < 0.05$ ) del NTC en el tratamiento de 0.5  $\mu$ M respecto al control (125.05 vs. 107.38) y respecto a los tratamientos de 5 y 10  $\mu$ M (106.37 y 102.85 respectivamente) mostrando como el Resv a bajas concentraciones puede mejorar la calidad embrionaria.

## **DESARROLLO DE UN PROTOCOLO DE EVALUACIÓN DE BIENESTAR EN FELINOS DOMÉSTICOS (FELIS CATUS). SU ROL COMO HERRAMIENTA EDUCATIVA EN LA INVESTIGACIÓN**

Mangas, J; Ferrari, HR

Universidad de Buenos Aires-Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Bienestar Animal. Buenos Aires, Argentina.

El objetivo del estudio fue la elaboración y puesta a prueba de un protocolo para la evaluación de bienestar en felinos domésticos (PEBf). El mismo fue diseñado para recolectar información a partir de una entrevista con el/los tenedor/es responsable/s en su hogar. Otro de los objetivos fue identificar, a partir del resultado del PEBf, posibles factores de riesgo para cada gato evaluado que puedan afectar su estado de bienestar. A partir de una revisión bibliográfica y actas de bienestar de gatos domésticos de otros países se realizó una nueva adaptación, a la ya planteada por otros, de las 5 nuevas libertades del FAWC (1993). El protocolo se presentó como 5 requerimientos mínimos (RM) relevantes para la especie felina. Estos RM a su vez contienen indicadores válidos, confiables y prácticos medibles en el hogar donde habita el gato doméstico. El PEBf fue elaborado en forma de Check-list (lista de comprobación) de preguntas breves dirigidas al propietario/s a cargo del animal. Contiene 126\* medidas en total contempladas cada una en sus respectivos RM: 70 son basadas en el animal (40 comportamentales, 10 fisiológicas y 20 de salud), 64 en los recursos disponibles y 20 en la relación humano-animal (\*algunas medidas se solapan y no fueron contabilizadas en la suma total). A estos datos cualitativos se le asignaron números que sumados arrojaron un resultado perteneciente a un rango representativo del estado de bienestar del felino evaluado. El mismo se interpretó como un valor simbólico que permitió acceder a un estado global: bueno, regular o malo de bienestar. En la prueba piloto se incluyeron 14 gatos domésticos seleccionados al azar: 9 machos y 5 hembras de 6 meses a 7 años de edad; 3 gatos viven solos y otros conviven en grupos de 4, 3 y 2. Se realizó un protocolo por cada gato. El tiempo estimado por cada entrevista fue de 2 horas. De las 14 entrevistas: 5 fueron clasificados con bienestar malo y 9 con regular. Los gatos que convivían juntos no arrojaron los mismos resultados. Como datos relevantes se observó que ninguno de los gatos contaba con la provisión de un ambiente adecuado, ni la presentación de agua y alimento según requerimientos mínimos. De los 14 gatos 12 presentaban ausencia de variabilidad conductual. La realización de conductas específicas en su mayoría eran castigadas por sus propietarios por considerarlas inadecuadas. A partir de la información proporcionada en el PEBf en 11 de los 14 casos se modificó el ambiente del gato y se obtuvo un aumento del repertorio conductual y disminución de conductas inapropiadas. El protocolo resultó una herramienta aplicable, eficaz y fácil de realizar para evaluar bienestar en gatos. Si bien la muestra fue pequeña, para el objetivo de elaboración y puesta a prueba resultó suficiente. Se identificaron varios factores de riesgo que pueden afectar al bienestar de los gatos entre los cuales la utilización del espacio apropiado, el castigo a las conductas específicas y el antropomorfismo fueron los predominantes. Como resultado emergente se observó, en los entrevistados, un gran entusiasmo por brindar información pero también por aprender acerca de los RM de sus gatos. Esto propone al PEBf como una guía educativa no formal para proveer conocimientos acerca de las necesidades básicas que permitan a los gatos alcanzar un bienestar óptimo y una relación humano animal más empática que antropomórfica.

## EVALUACIÓN COPROPARASITOLÓGICA EN VICUÑAS SILVESTRES (*VICUGNA VICUGNA*) DEL ALTIPLANO ARGENTINO

Marcoppido, G<sup>1,2,3,4</sup>; Arzamendia, Y<sup>3,4,5</sup>; Schapiro, J<sup>1,2</sup>; Morici, G<sup>1,2</sup>; Vilá, B<sup>3,4,6</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Patobiología, CICVyA, INTA Castelar;

<sup>2</sup>Universidad del Salvador (USAL);

<sup>3</sup>CONICET;

<sup>4</sup>VICAM (Vicuñas, Camélidos y Ambiente);

<sup>5</sup>INECOA CONICET- Universidad Nacional de Jujuy (UNJu), Facultad de Ciencias Agrarias; <sup>6</sup>Universidad Nacional de Lujan (UNLu)

Se realizó una evaluación coproparasitológica cuantitativa para determinar la presencia de nematodos gastrointestinales y coccidios en vicuñas silvestres (*Vicugna vicugna*) de la región de Santa Catalina, Laguna de Pozuelos, Jujuy. El trabajo se realizó durante las capturas conducidas por el Grupo de Investigación VICAM, en el marco de un programa de uso sustentable de vicuñas silvestres. Las vicuñas fueron capturadas, bajo estrictos protocolos de Bienestar Animal para la especie, durante los meses de noviembre del 2012, 2013 y 2014, en dos eventos de captura cada año. Las muestras de materia fecal fueron recolectadas directamente desde el recto de cada animal, utilizando un guante embebido en vaselina líquida y fueron colocadas en bolsas plásticas debidamente identificadas, y refrigeradas hasta su procesamiento en el Laboratorio de Parasitología del INTA Castelar. Los recuentos de huevos por gramo de materia fecal (hpg) y ooquistes por gramo de materia fecal (opg), se determinaron a través de la técnica McMaster modificada, para bovinos y ovinos. Para el cultivo de la materia fecal se utilizó la técnica de Corticelli-Lai. Se analizaron 150 muestras de materia fecal, de un total de 416 vicuñas capturadas, correspondiendo al 36,05% de los animales capturados, distribuidas de la siguiente manera: 106 en el 2012, 146 en el 2013 and 164 durante el 2014. La mayoría de las vicuñas se encontraban en óptimo estado de salud y no se registró la presencia de diarrea, edema submandibular, palidez de mucosas o debilidad durante el muestreo. No se registró mortandad durante los eventos de captura y manejo. Se detectaron huevos de parásitos nematodos en el 40,66% (61/150) de los animales muestreados, con un rango de excreción de 20 a 160 hpg. Solo un animal presentó un recuento máximo de 300 hpg durante noviembre del 2014. La prevalencia de vicuñas con ooquistes de coccidios fue del 7,33% (11/150), con un rango de 1 a 7 ooquistes por gramo de material fecal. Se encontraron huevos de *Nematodirus* sp en el 4,66% (7/150) de las muestras analizadas y una sola vicuña (1/150) presentó huevos de cestodes. Los cultivos de materia fecal resultaron negativos. La ausencia de signos clínicos compatibles con infestación parasitaria, junto con los bajos recuentos de huevos y ooquistes observados, sugieren bajos niveles de parasitismo en las vicuñas silvestres (*Vicugna vicugna*) que habitan su ambiente natural. Asimismo, estos recuentos no representarían una amenaza para las poblaciones de vicuñas silvestres ni para el ganado doméstico que cohabita en esta región del Altiplano Andino argentino.

## DESARROLLO DE INMUNOENSAYOS EN FASE SÓLIDA CON GAD65 EXPRESADA EN CÉLULAS DE INSECTO PARA APOYO DIAGNÓSTICO DE DIABETES MELLITUS AUTOINMUNE

<sup>1</sup>Marfía, JI; <sup>1</sup>Bombicino, SS; <sup>1</sup>Faccinetti, NI; <sup>1</sup>Sablij, AV; <sup>1</sup>Guerra, LL; <sup>2</sup>Miranda, MV;  
<sup>1</sup>Valdez, SN.; <sup>1</sup>Trabucchi, A

<sup>1</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Instituto de Estudios de la Inmunidad Humoral (IDEHU), Facultad de Farmacia y Bioquímica, Cátedra de Inmunología, UBA.

<sup>2</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Instituto de Nanobiotecnología (NANOBIOTEC), Facultad de Farmacia y Bioquímica, Cátedra de Biotecnología, UBA.

La Diabetes Mellitus tipo 1A es una enfermedad autoinmune órgano-específica que se caracteriza por la destrucción de las células beta pancreáticas, llevando a la deficiencia de insulina. Luego de la lisis celular debido al ataque de los linfocitos T citotóxicos, se quiebra la tolerancia inmunológica hacia componentes propios de los islotes pancreáticos generándose como consecuencia autoanticuerpos específicos para las células beta pancreáticas y sus productos. Los principales autoanticuerpos (marcadores) generados son: anti-glutamato decarboxilasa (GADA), anti-tirosina fosfatasa IA-2 (IA-2A), anti-insulina/proinsulina (IAA/PAA) y anti-proteína transportadora de zinc (ZnT8A), siendo estos dos últimos específicos de células beta pancreáticas. Estos autoanticuerpos pueden estar presentes varios años antes del debut clínico. Los GADA presentan una alta prevalencia en pacientes con debut reciente de Diabetes Mellitus tipo 1A. El *screening* de este marcador humoral es importante para la identificación de sujetos diabéticos con componente autoinmune. El objetivo del presente trabajo fue desarrollar inmunoensayos de fase sólida no radiométricos de bajo costo y elevada sensibilidad para la detección de GADA, empleando etiquetas enzimáticas acopladas a un revelado colorimétrico (ELISA) o luminométrico (Quimioluminiscencia -QL). Para ello, se utilizó como antígeno glutamato decarboxilasa (GAD65) expresada en el sistema eucariota baculovirus-células de insecto. Los inmunoensayos se basaron en la doble interacción de GADA, presente en los sueros de pacientes, tanto con el antígeno inmovilizado a la placa como con el antígeno soluble marcado con biotina. Por ELISA se evaluaron 45 sueros de pacientes diabéticos GADA+, mientras que por QL se evaluaron 43 sueros GADA+. Se procesaron simultáneamente 46 sueros humanos normales para el cálculo del valor de corte. Los resultados se expresaron en score de desvío estándar (sDS). Se comparó la performance del diseño frente al método de referencia (RBA). El diseño de ELISA alcanzó una sensibilidad relativa a la del RBA del 68,9% y una especificidad del 100,00%, con SDs que fueron desde 3,24 a 48,81, y una mediana de 7,45. El QL-ELISA presentó una sensibilidad relativa del 44,2 % y una especificidad del 100,0% con un rango de 3,08 a 29,70 y una mediana de 1,56. En conclusión, con GAD65 recombinante producida en células de insecto fue posible desarrollar inmunoensayos en fase sólida de elevada especificidad y sensibilidad para la detección del marcador GADA. Los resultados obtenidos factibilizan la implementación de dichos inmunoensayos no radiométricos para la prospección del marcador en laboratorios de mediana y baja complejidad.

## **AISLAMIENTOS DE MICOBACTERIAS NO TUBERCULOSAS EN PULMONES BOVINOS OBTENIDOS DE CARNICERÍAS**

Marfil, MJ<sup>1,2</sup>; Garbaccio SG<sup>3</sup>; Barandiaran, S<sup>1</sup>; Huertas P<sup>3</sup>;  
Eirin, ME; Martinez Vivot, M<sup>1</sup> Zumarraga, MJ<sup>2</sup>

1. Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Enfermedades Infecciosas. 2. Instituto de Biotecnología, INTA, Hurlingham, Argentina. 3. Instituto de Patobiología, INTA, Hurlingham, Argentina.

El ganado bovino es principalmente susceptible a la infección por *Mycobacterium bovis* especie que integra el complejo *Mycobacterium tuberculosis* (CMT). Sin embargo, en determinadas condiciones, puede haber lesiones compatibles con tuberculosis (LCT) causadas por micobacterias no tuberculosas (MNT). Esto también ocurre en humanos inmunosuprimidos. Las MNT crecen preferentemente en el medio de cultivo Löwestein Jensen (LJ) aunque también en Stonebrink (St). Son de rápido crecimiento, visualizándose las colonias a las 2 semanas de incubación. Son también ácido alcohol resistentes característica que permite identificarlas por la tinción de Ziehl Neelsen. Como esta característica es común a las micobacterias, se requiere de técnicas moleculares para su identificación. El objetivo de este trabajo fue identificar MNT aisladas de pulmones bovinos. Se procesaron 210 pulmones bovinos, 137 de ellos fueron obtenidos en un frigorífico de la zona oeste del Gran Buenos Aires (GBA) luego de la inspección bromatológica de rutina y 73 fueron comprados en carnicerías tanto del GBA y como de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Todas las muestras fueron revisadas en busca de LCT. Fueron cultivadas en medios St y LJ para el diagnóstico bacteriológico convencional. Para la identificación de las MNT, se adoptó como estrategia la identificación inicial del complejo *Mycobacterium avium* (MAC) mediante PCR IS1245, seguidamente de IS901 para determinar la subespecie. Cuando resultó negativo se realizó la identificación mediante secuenciación de un fragmento del gen que codifica la subunidad 16S de ARNr. Las secuencias obtenidas fueron comparadas con las disponibles online en *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) y *Ribosomal Database Project* (rdp). En este trabajo, se obtuvieron 11 aislamientos de MNT a partir de 6 pulmones con LCT y 5 sin LCT. Dos aislamientos fueron positivos para IS1245 y negativas para IS901, identificándose como *Mycobacterium avium* subsp. *homoissuis*. Las 9 restantes, identificadas por secuenciación 16S ARNr fueron: *M. intracellulare* (2), *M. nonchromogenicum* (1), *M. insubricum* (4) y *M. wolinskyi* (1). Una de las muestras secuenciadas mostró igual porcentaje de identidad con 4 especies distintas, todas ellas MNT, (*M. porcinum*; *M. fortuitum*; *M. neworleansense*; *M. septicum*) con lo que no se pudo definir la especie. Por las características propias de las micobacterias y de la enfermedad, las micobacterias pueden estar en tejidos sin LCT observables o en LCT pequeñas, internas y no deformantes. Por otra parte, las MNT pueden constituir un riesgo en la salud pública para un grupo de la población de alto riesgo (inmunosuprimidos) ya que el tratamiento convencional con antibióticos de primera elección puede ser ineficiente en caso de micobacterias naturalmente resistentes a ellos. Los resultados obtenidos en este trabajo contribuyen a estimar la prevalencia de MNT en este tipo de muestras.



## DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE TUBERCULOSIS, DISCORDANCIAS EN LAS DIFERENTES SECUENCIAS ESPECÍFICAS DE IDENTIFICACIÓN DEL COMPLEJO *Mycobacterium tuberculosis*.

Marfil, MJ<sup>1,2</sup>; Eirin, ME<sup>2</sup>; Falzoni, E<sup>1</sup>; Martinez Vivot, M<sup>1</sup>; Zumarraga, M<sup>2</sup>; Barandiaran, S<sup>1</sup>

1. Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Enfermedades Infecciosas. 2. Instituto de Biotecnología, INTA, Hurlingham, Argentina.

*Mycobacterium bovis* es el agente causal de la tuberculosis bovina (TB), que es una zoonosis endémica en la República Argentina. Si bien el cultivo constituye la prueba de oro para el diagnóstico, *M. bovis* es una micobacteria de crecimiento lento, pudiendo tardar hasta dos meses el desarrollo de colonias en el laboratorio. Las técnicas moleculares como la PCR están ampliamente difundidas para la detección de micobacterias, ya sea a partir de tejidos, cultivos e incluso lavajes traqueales. La secuencia de inserción más comúnmente usada es la de IS6110, que detecta un fragmento de ADN común a todas las micobacterias del complejo *Mycobacterium tuberculosis* (CMT). Se han descrito otras secuencias capaces de identificar especies del CMT, como la denominada Rv2807 e IS1081. Cada una amplifica un fragmento de distinto tamaño (245 pb, 443 pb y 247 pb respectivamente). Por otra parte se ha observado que entre ellas difieren en sus límites de detección. El objetivo de este trabajo fue amplificar por PCR las secuencias IS6110, Rv2807 e IS1081 en aislamientos obtenidos de diferentes hospedadores y comparar su potencial utilidad en la identificación de especies del CMT. Se procesaron 25 muestras de órganos y linfonódulos remitidas a la cátedra de enfermedades infecciosas de la Facultad de Ciencias Veterinarias, de la Universidad de Buenos Aires. Todas las muestras presentaban lesiones compatibles con tuberculosis. Las mismas fueron cultivadas en medios Stonebrink y Löwestein Jensen para el diagnóstico bacteriológico convencional y los aislamientos fueron evaluados por PCR utilizando las 3 secuencias del CMT. El 20% de las muestras (5/25) fueron positivas para las tres secuencias amplificadas mientras que el 32% (8/25) fueron negativas para todas las secuencias amplificadas. El 28% (7/25) fueron positivas solo para 2 de las secuencias (con excepción de una muestra que fue positiva para IS6110 e IS1081, las restantes fueron positivas para IS6110 y Rv2807. Las 5 muestras restantes solamente fueron positivas a una sola de las secuencias blanco. El 56% de las muestras evaluadas por PCR-IS6110 y el 52 % de las muestras evaluadas por PCR-Rv2807 fueron positivas, mientras que solo el 24% de las muestras obtuvieron resultados por PCR-IS1081. La técnica de PCR es una herramienta útil en el diagnóstico de la tuberculosis. Algunas técnicas de PCR tienen mayor sensibilidad arrojando mayor cantidad de resultados positivos que otros. En este ensayo solamente en 13 de las 25 muestras coincidieron en los resultados de las tres secuencias. Por su parte, IS6110, que es la más ampliamente difundida, fue con la que detectó un mayor número de resultados positivos, seguida por Rv2807. Sin embargo, 3 muestras fueron negativas a esta secuencia y positivo a alguna de las otras 2 evaluadas. Por lo tanto, si se quisiera optimizar la sensibilidad diagnóstica por biología molecular se deberían analizar al menos IS6110 y Rv2807 juntas. No obstante, rutinariamente el uso de la IS6110 cuenta con una sensibilidad aceptable por lo que recomendamos su uso cotidiano por medio de este trabajo.

## MICROORGANISMOS BACTERIANOS MÁS FRECUENTES EN MUESTRAS DE LECHE CRUDA Y SU RESISTENCIA MICROBIANA EN UN TAMBO DE LOMA PLATA, DEPARTAMENTO DE BOQUERÓN- AÑO 2016.

Martínez, M<sup>1</sup>; Torres, M<sup>2</sup>; Acuña, V<sup>3</sup>; Lara, M<sup>2</sup>; González, A<sup>2</sup>; Báez, M<sup>2</sup>; Franco, F<sup>4</sup>

1. Estudiante Facultad de Ciencias Veterinarias UNA
2. Departamento de Ciencias Fisiológicas FCV UNA
3. Departamento de Epidemiología y Salud Pública FCV UNA
4. FECOPROD (Federación de Cooperativas de Producción).

Facultad de Ciencias Veterinarias - UNA  
Paraguay, San Lorenzo.  
[marcosmartinezmarin@gmail.com](mailto:marcosmartinezmarin@gmail.com)

El objetivo del trabajo fue determinar los microorganismos bacterianos más frecuentes en muestras de leche cruda y su resistencia microbiana. Fueron utilizados 86 bovinos lecheros de los que se extrajeron muestras, analizadas con el Fossomatic para el recuento de células somáticas (RCS) determinándose el valor mínimo (mayor a 200.000 células/mL) dando un total de 60 muestras (70%) con RCS elevadas. Posteriormente se realizó el cultivo y se determinó que los *Staphylococcus coagulasa positivo* (24%) y los *Staphylococcus coagulasa negativo* (12%) fueron los microorganismos más frecuentes con el 36%, seguidos por la *Pseudomona aeruginosa* con un 34%. La resistencia microbiana se obtuvo con el sistema Vitek 2 compact arrojando 3 antibióticos de mayor resistencia (penicilina, tetraciclina y cefpodoxima). El *Staphylococcus aureus* mostró una resistencia de 17,8%, el *Staphylococcus chromogenes* 10% y la *Kocuria kristinae* 87,5% a la penicilina. Faría y col. 2005 de 158 muestras, hallaron un 14% de *Staphylococcus aureus* con resistencia a la penicilina del 14%, siendo los resultados de resistencia similar a este trabajo. Por otro lado, Fernández 2013 indica que en los SCN (*Staphylococcus coagulasa negativo*), el más aislado de la mastitis bovina es el *Staphylococcus chromogenes* que presenta alto porcentaje de resistencia a la penicilina, contrastando con los resultados de este estudio se encuentra a *S. chromogenes* resistente a penicilina en menor grado comparando con otros microorganismos. *Kocuria* spp presenta resistencia a la penicilina de tipo natural pero se sugiere seguir con otras investigaciones futuras. La *Pseudomona aeruginosa* presentó 100% de resistencia de tipo natural a la tetraciclina. La resistencia fue de 3,5% para *S. aureus* y al *Staphylococcus saprophyticus* de 85,7% , siendo estas dos bacterias SCP(*Staphylococcus coagulasa positivo*), datos que difieren con los encontrados por Aponte 2007, en donde la resistencia de SCP frente a la tetraciclina fue de 38%. La resistencia de la *Pseudomona aeruginosa* a la cefpodoxima fue de un 100%, al *Staphylococcus aureus* 14,3% y para el *Staphylococcus saprophyticus* 100%. Las *Pseudomonas* presentan resistencia natural a la cefpodoxima. No se encontraron datos referentes en la utilización de cefpodoxima en la terapéutica de mastitis por lo que la resistencia encontrada en los SCP podría ser objeto de estudio en futuras investigaciones.

## **EPIDEMIOLOGÍA DESCRIPTIVA DE GEOHELMINTOS Y PROTOZOARIOS ZONÓTICOS EN ANIMALES DE COMPAÑÍA EN UN ENTORNO VULNERABLE DE LA CIUDAD AUTÓNOMA DE BUENOS AIRES**

Martínez, G<sup>1</sup>; Martínez Vivot, M<sup>2</sup>; Loiza, Y<sup>1,3</sup>; Cardillo, N<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Parasitología y Enfermedades Parasitarias. Buenos Aires, Argentina.

<sup>2</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Enfermedades Infecciosas. Buenos Aires, Argentina.

<sup>3</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Veterinaria en Salud Pública. Buenos Aires, Argentina.

<sup>4</sup>CONICET. Universidad de Buenos Aires. Instituto de Investigaciones en Producción Animal. (INPA). Facultad de Ciencias Veterinarias. Buenos Aires, Argentina.

*Toxocara* spp., *Strongyloides stercoralis* y *Ancylostoma* spp. son helmintos gastrointestinales de perros y gatos considerados zoonóticos y tienen como vía común de transmisión el suelo, mientras que la principal vía de transmisión de los protozoarios *Giardia intestinalis* y *Cryptosporidium* spp. es el agua contaminada con materia fecal de estas especies animales. Esto cobra especial interés dadas las características de la población del barrio Los Piletones, un asentamiento precario de la CABA; ubicado en una zona baja e inundable, planteando el interrogante sobre si los animales de compañía del lugar podrían ser fuente de geohelmintos y protozoarios causantes de zoonosis en la población humana. El objetivo del presente estudio es estudiar la frecuencia y distribución de dichos parásitos de perros y gatos en el entorno peridomiciliario del barrio Los Piletones durante el período 2017-2018. Describir determinantes sociales de la convivencia humano animal en torno a la ocurrencia de parasitosis en los animales, y brindar herramientas de prevención. Durante un año se recolectarán aleatoriamente muestras de materia fecal de caninos y felinos del suelo del peridomicilio, remitiéndose en fresco, identificadas y refrigeradas al laboratorio de la Cátedra de Parasitología y Enfermedades Parasitarias FCV-UBA. Las mismas se procesarán en forma individual, mediante tres técnicas coproparasitológicas: Bembrook modificada, Baermann y Telemann. *Cryptosporidium* spp. serán identificados a partir de extendidos de materia fecal teñidos por la técnica de anilina carboxi-metil violeta. Se identificarán por microscopía óptica y se clasificarán por género parasitario. Las muestras positivas a *Giardia intestinalis* y *Cryptosporidium* spp. se acondicionarán para estudios moleculares. Durante 2016 se realizó un relevamiento de materia fecal de caninos y felinos del Barrio, donde el 64,70 % resultaron positivos al menos a un género parasitario. De acuerdo con estos resultados previos se espera encontrar altas prevalencias de geohelmintos y protozoarios zoonóticos. Al estudiar y conocer la distribución de los géneros parasitarios y la posible relación con variables antropológicas permitirá realizar aportes a programas de tenencia responsable y a la planificación del espacio público, promocionando y extendiendo a agentes de salud y veterinarios la voluntad de trabajar multidisciplinariamente enfatizando el enfoque mundial sobre “una salud”.

Agradecimientos: El presente estudio será subsidiado a través de los siguientes proyectos: Proyecto UBACyT 2014- 2017 20020130300003BA, Proyecto PICT-2013-0965 y Proyecto UBANEX 8ª Convocatoria (Exp. UBA 52995/2015) a subsidio de Extensión Universitaria.

## EVALUACIÓN DEL NIVEL DE ANTICUERPOS NATURALES EN CAPRINOS NATURALMENTE RESISTENTES O SUSCEPTIBLES A LA INFECCIÓN CON *BRUCELLA MELITENSIS*

Maurizio, E<sup>1</sup>; Dunleavy, M<sup>1</sup>; Trangoni, MD<sup>2</sup>, Rossetti, CA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Patobiología, CICVyA-CNIA, INTA. Nicolás Repetto y de Los Reseros s/n, Hurlingham, Buenos Aires, Argentina.

<sup>2</sup> Instituto de Biotecnología, CICVyA-CNIA, INTA. Nicolás Repetto y de Los Reseros s/n, Hurlingham, Buenos Aires, Argentina.

Los anticuerpos naturales (AcN) son inmunoglobulinas producidas en ausencia de un estímulo antigénico y han sido propuestos como una línea de defensa innata frente a las infecciones. Su presencia constante en circulación, así como su tendencia a la poli-reactividad, permiten un contacto temprano con potenciales patógenos que genera la activación del complemento y el atrapamiento de las partículas en los sitios de presentación y activación inmune. *B. melitensis* es el agente etiológico de la brucelosis caprina, una enfermedad que genera importantes pérdidas productivas en las majadas y que presenta un alto potencial zoonótico. Previamente, se seleccionaron caprinos cuyos macrófagos mostraron un comportamiento permisivo (susceptibles o “S”; n=8) o restrictivo (resistentes o “R”; n=10) para el crecimiento intracelular de *B. melitensis*. El objetivo del presente estudio fue evaluar si existen diferencias en los niveles de AcN entre ambos grupos. Como metodología se empleó un ELISA previamente validado y optimizado para comparar los niveles séricos de AcN que reconocen un antígeno novel: la hemocianina de la lapa californiana (KLH). El control positivo utilizado fue suero proveniente de un caprino inmunizado con dos dosis subcutáneas de KLH en adyuvante, separadas por 15 días. Se utilizó un conjugado específico para caprino marcado con peroxidasa de rábano y tetrametilbencidina como sustrato. Las lecturas se efectuaron a 450 nm, cada suero se procesó por cuadruplicado en 2 oportunidades. Los valores se expresaron en Unidades Arbitrarias ELISA (UE), correspondientes al cociente entre las diferencias entre los valores obtenidos para cada suero y el negativo y la diferencia entre el suero control positivo y el negativo. Las medias de los grupos fueron estimadas en 28,03 UE (Restrictivo) y 20,76 UE (Permisivo). No se encontraron diferencias entre estos valores ( $\alpha=0,05$ ;  $p=0,22$ ). Mediante herramientas de simulación se estimó que, con una potencia del 80% e igual diferencia de medias y varianza, se requieren 39 animales por grupo para encontrar diferencias estadísticas. Dicha variabilidad de los AcN concuerda con los resultados obtenidos previamente para esta determinación. La ampliación del tamaño muestral permitiría, por lo tanto, establecer la relación entre la inmunidad humoral innata y la resistencia natural a los agentes infecciosos de interés clínico, productivo y zoonótico.

## AUREOBASIDIUM SP. COMO PROBIÓTICO EN EL CULTIVO DE RHAMDIA QUELEN, PROCHILODUS LINEATUS Y PIARACTUS MESOPOTAMICUS

Mendoza JA<sup>1,2</sup>; Lizardo Falcón, S<sup>1,2</sup>; Guidoli, MG<sup>1,2</sup>;  
Amable VI<sup>1</sup>; Boehringer SI<sup>1</sup>; Sánchez S<sup>2</sup>

Universidad Nacional del Nordeste, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Microbiología<sup>1</sup> e Instituto de Ictiología del Nordeste (INICNE)<sup>2</sup> – Sargento Cabral 2139, Corrientes, Argentina. E-mail: [jorge\\_vet06@hotmail.com](mailto:jorge_vet06@hotmail.com)

Aureobasidium es un género de hongos ambientales dimórficos de creciente importancia biotecnológica y potencialidad probiótica. La cepa CPPR3M fue aislada en primavera por raspado de mucosa intestinal de un pacú (*P. mesopotamicus*) en cautiverio. El estudio de sus propiedades benéficas sólo reveló moderada actividad emulsificante y elevada producción de peróxido de hidrógeno. Así, fue seleccionada como potencial probiótico para su uso en piscicultura de *P. mesopotamicus*, *P. lineatus*, *R. quelen*. El moho se administró a larvas durante los primeros 15 días de vida en dosis de  $6 \times 10^2$ ,  $6 \times 10^4$  y  $6 \times 10^6$  UFC/L y un control sin microorganismos. Al finalizar se determinó la sobrevivencia, peso medio y biomasa y los datos se analizaron mediante ANOVA y el test poshoc correspondiente. En bagre, las larvas a las que se administró con  $6 \times 10^6$ ,  $6 \times 10^2$  y  $6 \times 10^4$  UFC/L mostraron mayores valores promedio de sobrevivencia, peso medio y biomasa, con incrementos de 15,58, 12,17 y 8,45%, respectivamente, y sin diferencias significativas ( $p > 0,05$ ), en relación al control. En sábalo, la administración de  $6 \times 10^6$  UFC/L indujo un valor promedio de sobrevivencia 7,88% superior al control, sin diferencias significativas ( $p > 0,05$ ). Los demás parámetros fueron afectados negativamente en cualquiera de las dosis ensayadas. En pacú no se observaron diferencias significativas respecto del control ( $p > 0,05$ ) para los valores de sobrevivencia. Mientras que el peso medio en el tratamiento con  $6 \times 10^6$  UFC/L y la biomasa del  $6 \times 10^2$  y  $6 \times 10^6$  UFC/L disminuyeron 59,15, 50,16 y 50,06%, respectivamente, en comparación al grupo control, siendo estas las únicas diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Estos resultados no estarían en concordancia con la especificidad de especie, que establece que las cepas bacterianas aisladas de la microbiota indígena de una determinada especie no colonizan necesariamente el mismo sitio de otra especie animal y por ende no podrían ejercer su efecto benéfico en las mismas. Además, teniendo como parámetro de selección los valores promedios de biomasa, el presente trabajo permitiría seleccionar como las mejores dosis a  $6 \times 10^2$  UFC/L para sábalo (*P. lineatus*) y  $6 \times 10^4$  UFC/L para bagre (*R. quelen*) y pacú (*P. mesopotamicus*) para su incorporación en formulaciones probióticas multicepa, esperando un aumento en los parámetros biométricos por acción sinérgica de las distintas cepas. Por otro lado, la creciente evidencia del efecto benéfico del uso de extractos secos de hongos filamentosos, o bien enzimas fúngicas purificadas, permitirán al grupo de investigación abrir nuevas líneas para el estudio de la síntesis, expresión, función, estabilidad y potencial aplicación en piscicultura de enzimas sintetizadas por hongos autóctonos del tracto digestivo de peces nativos del NEA.

## EVALUACIÓN DE DISTINTAS TÉCNICAS DIAGNÓSTICAS PARA TUBERCULOSIS Y PARATUBERCULOSIS BOVINA EN UN RODEO DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES

Mon, M<sup>1</sup>; Colombatti Olivieri, M<sup>1</sup>; Eirin, ME<sup>1</sup>; Marfil, MJ<sup>1</sup>; Martinez Vivot, M<sup>2</sup>; Mariana, S<sup>3</sup>; Alonso, B<sup>3</sup>; Rodrigo, I<sup>3</sup>; Romano, MI<sup>1</sup>; Barandiarán, S<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Instituto de Biotecnología. INTA Castelar. <sup>2</sup> Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Enfermedades Infecciosas. Buenos Aires Argentina.<sup>3</sup> SENASA, Martinez.

La Tuberculosis bovina (TBB) y la Paratuberculosis (PTB) son enfermedades que limitan el desarrollo de la industria lechera y de la carne en Argentina. La prueba oficial de TBB es la intradermoreacción (IDR) con PPD-B. La prueba de oro para ambas enfermedades es el cultivo bacteriológico, pero actualmente las técnicas moleculares son empleadas cada vez más. Existen distintas técnicas de diagnóstico para ambas enfermedades, están las que miden respuesta celular (ensayo de liberación de IFN-g), las que detectan la respuesta humoral (ELISA), así como también las técnicas moleculares para la detección de la micobacteria (PCR). Sin embargo, todas estas técnicas presentan baja sensibilidad y especificidad, lo cual es una problemática para la erradicación de ambas enfermedades. El objetivo fue evaluar distintas técnicas de diagnóstico para TBB y PTB en un rodeo con antecedentes de las dos enfermedades, con seguimiento a frigorífico de los animales en estudio. Se realizó la IDR en la tabla del cuello con PPD-B y PPD-A de 35 animales. En el momento de la lectura de la reacción se tomó suero de todos los animales para realizar la técnica de ELISA tanto con un antígeno total de *M. bovis* como con un antígeno total de *M. avium*. Por otra parte, se tomó sangre entera para realizar el ensayo de liberación de IFN-g. Por último, se tomó materia fecal para evaluar la presencia de MAP por real time PCR en aquellos animales con serología positiva para el antígeno de MAP. Luego en el seguimiento a frigorífico se tomaron muestras de todos los animales para realizar cultivo y PCR directo de órgano. De los 35 animales evaluados 3 dieron positivo tanto a la IDR con PPD-B como con PPD-A, 1 animal reaccionó positivamente sólo a PPD-B y 4 animales resultaron sospechosos, 2 a PPD-A y 2 a PPD-B. En el caso del ensayo de liberación de IFN-g ninguno de los animales resultó positivo. Por otra parte, en la técnica de ELISA 3 animales resultaron con serología positiva con el antígeno de MAP, mientras que ninguno dio serología positiva con el antígeno de *M. bovis*. En el caso de la detección de MAP en materia fecal por PCR en tiempo real, se pudo detectar en 6 animales a la micobacteria, de los cuales algunos de ellos habían arrojado serología positiva para MAP, otros negativos al resto de las técnicas diagnósticas y algunos de ellos IDR positiva. Por último, en uno de los animales positivos por IDR con PPD-B, se pudo aislar a *M. bovis*. Adicionalmente mediante la técnica de PCR directa de órgano dieron negativo todos los animales. En el seguimiento a frigorífico solamente se encontró una lesión macroscópica en uno de los animales. En este trabajo estudiamos la presencia de lesiones, la respuesta celular, la respuesta humoral, como la detección del agente infeccioso. Con los resultados obtenidos corroboramos la problemática del diagnóstico de TBB y PTB dado que las diferentes técnicas disponibles poseen distintos porcentajes de sensibilidad y especificidad y una baja proporción de concordancia.

## **EFFECT OF BLOCKING OF CTLA-4 AND PDL-1 IMMUNE CHECKPOINT ON THE GROWTH OF TWO MURINE TUMORS DISPLAYING DIFFERENT IMMUNOGENICITY**

Montagna, DR; Strazza, A; Chiarella, P; Ruggiero, RA

Laboratorio de Oncología Experimental, IMEX-CONICET  
Academia Nacional de Medicina.

A more profound understanding of the cellular and molecular aspects of the immune response achieved in the last 20 years, prompted the development of numerous new schedules of immunotherapy against cancer, including immune checkpoint inhibitors, such as antibodies against cytotoxic T lymphocyte – antigen 4 (CTLA-4) - that have prolonged the survival of some patients with melanoma - or against programmed death-ligand 1 (PD-L1) putatively present in some tumor cells. However, despite these promissory expectations, most experimental studies in this topic were performed in mice bearing strongly immunogenic chemically-induced tumors that are not the best models for clinical cancer. Herein, we have studied the effect of blocking of CTLA-4 and PDL-1 on the growth of two murine tumors displaying widely different degrees of immunogenicity: the strongly immunogenic methylcholanthrene-induced MC-C fibrosarcoma and the spontaneous L-MM3 carcinoma displaying undetectable immunogenicity. Tumor-bearing mice (n = 6 mice per group) received 3 doses of 100 µg i.p. of anti-CTLA-4 antibody each 4 days starting at day 3, 10 or 17 after the s.c. inoculum with  $5 \times 10^5$  MC-C or L-MM3 tumor cells, that is when the tumor was incipient (I), medium (M) or large (L). MC-C: At day 35, tumor volumes of treated groups were: [media ± SE] I:  $314 \pm 74 \text{ mm}^3$  ( $p < 0.001$ ); M:  $2,085 \pm 273 \text{ mm}^3$ ; L:  $3119 \pm 286 \text{ mm}^3$  ( $p < 0.05$ ). Tumor volume of control group was:  $2,027 \pm 63 \text{ mm}^3$ . L-MM3: At day 35, tumor volumes of treated groups were: I:  $2797 \pm 204 \text{ mm}^3$  ( $p < 0.05$ ); M:  $1929 \pm 129 \text{ mm}^3$ ; L:  $2071 \pm 161 \text{ mm}^3$ . Tumor volume of control group was:  $2,142 \pm 104 \text{ mm}^3$ . Then, we combined this treatment with anti-PDL-1 in incipient L-MM3 tumor (100 µg anti-PDL-1 was daily inoculated for 13 consecutive days by i.p. route starting 2 days before the onset of anti-CTLA-4 treatment). At day 35, tumor volume of treated mice was  $828 \pm 102 \text{ mm}^3$  (n=4) vs. control  $2119 \pm 269 \text{ mm}^3$  (n=4),  $p < 0,01$ . Our results revealed that CTLA-4 blocking was therapeutically efficient against small-sized strongly immunogenic tumors. However, as tumor grew, a tumor-stimulatory effect was observed. In contrast, an accelerated growth of L-MM3 tumor was observed when an anti-CTLA-4 inhibitor was administered at early stages of tumor growth; afterwards, no effect was detected. On the other hand, a conspicuous anti-tumor effect was achieved with anti-PD-L1 on L-MM3 tumor growth (L-MM3 displaying high PDL-1 expression), although it was restricted to incipient tumors. When larger tumors were concerned null or stimulatory effects were observed. The administration of anti-CTLA-4 together with anti-PD-L1 in L-MM3 slightly improved the anti-tumor effects of each separately, but, again, only when small tumors were concerned.

## PARASITOSIS EMERGENTES: *EUCOLEUS BOEHMI*, UN NUEVO DESAFÍO DIAGNÓSTICO

Montalvo, F<sup>1</sup>; Bonboni, A<sup>1</sup>; Vera, V<sup>1</sup>; Fariña, F<sup>1,2</sup>; Pasqualetti, M<sup>1,2</sup>; Cardillo, N<sup>1,2</sup>;  
Ribicich, M<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Parasitología y Enfermedades Parasitarias. Buenos Aires. Argentina.

<sup>2</sup>CONICET. Universidad de Buenos Aires. Instituto de Investigaciones en Producción Animal. (INPA). Facultad de Ciencias Veterinarias. Buenos Aires, Argentina.

*Eucoleus boehmi* es un nematode que pertenece a la familia Capillariidae, descrito por primera vez en zorros de República Checa y Austria, y rara vez encontrado en perros domésticos. Los estadios adultos de este nematode parasitan los cornetes nasales, el seno frontal y paranasal del hospedador. Las hembras producen huevos que son deglutidos, llegando con la materia fecal al ambiente en el cual evolucionan. Los animales se infectan por la ingestión de huevos larvados, y se postula a la lombriz de tierra como posible hospedador paraténico. Tras la ingestión, los huevos eclosionan y las larvas penetran en la pared intestinal, migrando por vía sanguínea hasta la cavidad nasal donde alcanzan el estadio adulto en 4 a 6 semanas. La mayoría de las infecciones son subclínicas, pero dependiendo de la carga parasitaria, los perros pueden tener signos respiratorios como estornudos y secreción nasal. El estudio describe el caso de una perra hembra de 14 años de edad, mestiza de tamaño mediano. El animal llega a consulta por episodios de diarrea y estornudos esporádicos. Se realizó el examen objetivo general y particular presentando todos sus parámetros dentro de los valores normales. El examen coproparasitológico de rutina se llevó a cabo mediante la técnica de Bembrook modificada, dando positivo a huevos de *Eucoleus boehmi*. Se trató al animal con moxidectina al 3,5 %, spot-on en una única dosis. La eficacia del tratamiento se constató a través de análisis coproparasitológicos posteriores en los cuales no se detectaron huevos del parásito. *E. boehmi* es una parasitosis emergente en caninos de Argentina y en el mundo, reportándose nuevos casos en los últimos años. Su ciclo biológico plantea aún muchos interrogantes respecto a la transmisión. Han sido probados diferentes protocolos de tratamiento basados en el uso de benzimidazoles y lactonas macrocíclicas, con resultados muy variables, por lo que no existe un consenso respecto al manejo de la parasitosis y su prevención. Es por ello que la presentación del presente caso brinda una estrategia, que en coincidencia con otros autores, ha logrado la eficacia del tratamiento y la cura clínica del animal. La similitud morfológica de los huevos de *E. boehmi*, *E. aerophilus* y *Trichuris* spp. indica la necesidad de focalizar en el correcto diagnóstico diferencial de estos agentes en los estudios de materia fecal. Dada su presentación, se recomienda considerarla dentro de las patologías causantes de rinitis crónicas.

Agradecimientos: El presente estudio es subsidiado a través del Proyecto UBACyT 2014-2017 (cód.20020130300003BA).



## **ESTUDIO PRELIMINAR DE LA PRESENCIA DE *TRICHINELLA* SPP. EN FAUNA SILVESTRE EN EL NORESTE DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES.**

Montes de Oca, D<sup>1</sup>; Lammel, MN<sup>1</sup>; Castaño, R<sup>2</sup>; Morici, G<sup>2</sup>; Cavia, R<sup>1</sup>; Dominguez, M<sup>2</sup>

1 Laboratorio de Ecología de Poblaciones, Dto. de Ecología, Genética y Evolución (FCEN - UBA) e Instituto de Ecología, Genética y Evolución de Buenos Aires (UBA - CONICET)

2. Instituto de Patobiología, INTA-Castelar.

La triquinosis es una zoonosis parasitaria endémica en Argentina. El hombre se contagia accidentalmente por el consumo de carne cruda o mal cocida, principalmente de cerdo, contaminada con larvas de nematodos del género *Trichinella*. En el año 2016, han sido notificados 373 casos humanos y 53 focos porcinos en la provincia de Buenos Aires. Se han descrito dos ciclos biológicos que explican el flujo de transmisión de *Trichinella spiralis*, el doméstico y el silvestre. El primero, de mayor importancia en salud pública, involucra al hombre, los animales domésticos y algunos animales sinantrópicos. Entre los hospedadores del ciclo silvestre, la infección se mantiene por depredación o consumo de carroña. Cuando los animales silvestres se acercan a los ambientes antrópicos, se infectan al depredar sobre animales sinantrópicos. Se desconoce el papel que pueden tener los animales silvestres de esta región en el ciclo de transmisión de *Trichinella* spp. El objetivo de este trabajo es estudiar la presencia de larvas de nematodos del género *Trichinella* en animales silvestres de una zona agropecuaria en la provincia de Buenos Aires. Durante el período 2014-2016 se colectaron estacionalmente carcasas de animales silvestres atropellados en rutas y caminos al noreste de la provincia de Buenos Aires. Para esto se realizaron recorridos en un vehículo a velocidad mínima permitida a lo largo de 715 km atravesando 14 partidos desde Zárate hasta Cañuelas. Se determinó la especie del animal, se registró su ubicación, y se tomó una muestra de tejido muscular. Las muestras de músculo fueron procesadas con la técnica de Digestión Artificial Rápida en el Instituto de Patobiología del INTA Castelar. Se colectaron un total de 361 carcasas pertenecientes a las clases mamíferos (241), aves (92) y reptiles (28). Hasta el momento, se analizaron 117 muestras y se hallaron larvas morfológicamente compatibles con *Trichinella* spp. en un taguató (Aves, *Buteo magnirostris*), en un perro y en un ave cuya especie no fue identificada. Se encontraron 7,9, 3,1 y 1,9 larvas por gramo en el *B. magnirostris*, el perro y el ave no identificada, respectivamente. Los estudios moleculares preliminares [PCR Multiplex del segmento de expansión 5 (ES5) y simple de la región espaciadora intergénica 5S rADN (5S ISR)] que se realizaron para las larvas encontradas en el *B. magnirostris* determinaron que estas no pertenece a *Trichinella spiralis* ni a *T. patagoniensis*. Otros análisis son necesarios para determinar la especie a la que pertenecen dichas larvas.

## ESTRATEGIAS DE CONTROL PARASITARIO: EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN EN EL ALMACENAMIENTO DE LARVAS DE *HAEMONCHUS CONTORTUS* EN CONDICIONES DE LABORATORIO

Niño Uribe, A<sup>1,2</sup>; Illanes, F<sup>1</sup>; Pruzzo, C<sup>1</sup>; Romero, J<sup>1</sup>

1. CEDIVE, FCV, UNLP
2. CONICET

En las últimas décadas, el control parasitario de ovinos ha sido enfocado en mayor medida en el uso intensivo de antiparasitarios, generando resistencia a la mayoría de productos existentes. Es necesario cambiar el paradigma del control parasitario, ya que la resistencia no es problema de un producto, sino del modelo de uso, por ello es importante conocer métodos alternativos de control. Nuestro grupo de trabajo mantiene una cepa de *Haemonchus contortus* (cepa CEDIVE), que ha sido aislada de un establecimiento del Partido de Chascomús, Provincia de Bs As, que ha resultado 100% susceptible a Bencimidazoles y otros antiparasitarios. La introducción de una cepa definida es actualmente nuestro motivo de estudio, por lo que es preciso conocer el comportamiento de los estadios de vida libre de la cepa CEDIVE. Llevarlo a cabo es imprescindible para mantener la mencionada cepa en condiciones controladas de laboratorio, por lo tanto, debemos conocer los tiempos de supervivencia de la misma teniendo en cuenta la concentración en su almacenamiento. Diariamente se recolectaron muestras de materia fecal de un cordero previamente inoculado con la cepa CEDIVE, que fueron cultivadas mediante el método de Henriksen y Korsholm en estufa a 25° C y 90% de humedad, en un lapso de tiempo no mayor a 15 días. Terminado el tiempo de incubación, los cultivos se colocaron en un dispositivo de Baermann por 6 horas recuperando así la totalidad de larvas eclosionadas. Una vez obtenidas fueron lavadas para eliminar la mayor cantidad de residuos orgánicos y restos de materia fecal. Se introdujeron en recipientes plásticos de 200 ml con tapa hermética, 15 de ellos con menos de 4000 larvas/ml y otros 15 con más, y luego se almacenaron en heladera a una temperatura constante de 13° C. En el lavado y almacenado se utilizó agua destilada. Semanalmente se evaluó la cantidad de larvas vivas en cada uno de los recipientes. El análisis estadístico se realizó mediante la prueba de ANOVA. Se pudo observar que los recipientes en los cuales las concentraciones son menores a 4000 larvas/ml tuvieron una vida media de 129.44 días, mientras que a concentraciones mayores la vida media fue de 69.53 días, hallándose diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,002$ ). Los resultados demuestran que la concentración de almacenamiento de las larvas ocupa un papel importante en la conservación de las mismas a una temperatura constante de 13 °C. Los datos obtenidos del presente estudio, en conjunto con la dinámica de eliminación de huevos a partir de una inoculación experimental que explica la producción medida en HPG, nos permite mantener una cantidad constante de larvas para su posterior uso en la introducción de una cepa definida, como alternativa de control.

## **PARTICIPACIÓN DE LAS ENZIMAS LDH Y SDH EN EL MANTENIMIENTO DE LA MOVILIDAD ESPERMÁTICA EN SEMEN PORCINO FRESCO Y CRIOPRESERVADO EVALUADA POR UN SISTEMA DE ANÁLISIS COMPUTARIZADO**

Nuñez, K <sup>1</sup>; Breininger, E <sup>1,2</sup>; Rodriguez, PC <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Instituto de Investigación en Tecnología y Reproducción Animal (INITRA), Cátedra de Química Biológica.

<sup>2</sup> CONICET-Universidad de Buenos Aires, Investigaciones en Producción Animal (INPA).

Los espermatozoides deben completar una serie de cambios estructurales y metabólicos para adquirir la habilidad de fecundar ovocitos maduros. Este proceso es llamado capacitación y está asociado con modificaciones bioquímicas que regulan cambios transitorios en la movilidad espermática. La criopreservación de espermatozoides porcinos constituye un componente indispensable en las técnicas de reproducción asistida y el mantenimiento de la movilidad espermática representa uno de los requerimientos fundamentales para la fecundación. El objetivo general de esta beca es estudiar la participación de las enzimas lactato deshidrogenasa (LDH) y succinato deshidrogenasa (SDH) en los mecanismos responsables del mantenimiento de la movilidad durante la capacitación de espermatozoides porcinos frescos y criopreservados. De acuerdo a lo propuesto en el plan de beca, se evaluará la vitalidad (por la técnica de eosina-negrosina), el porcentaje de espermatozoides capacitados (por la técnica fluorescente de clorotetraciclina) y la movilidad espermática de manera subjetiva y por un sistema de análisis computarizado, antes y después del proceso de capacitación, y en ausencia y presencia de diferentes concentraciones de oxamato de sodio o malonato de sodio (inhibidores específicos de las enzimas LDH y SDH respectivamente). También se analizará la existencia de correlaciones entre los hallazgos obtenidos por el análisis computarizado (velocidad curvilínea, velocidad rectilínea, velocidad media y porcentajes de espermatozoides inmóviles, móviles lentos, móviles medios, móviles rápidos y con movilidad progresiva) y los resultados obtenidos al evaluar subjetivamente la movilidad espermática. Hasta el momento se pusieron a punto las técnicas mencionadas, se realizaron las primeras experiencias de análisis de la movilidad por un sistema de análisis computarizado con semen fresco y se congelaron las muestras para repetir las experiencias con semen criopreservado. La evaluación de la movilidad espermática, por un sistema de análisis computarizado, y de la participación de estas enzimas en los mecanismos involucrados en la generación de la energía necesaria para el mantenimiento de la movilidad, contribuirá a dilucidar el perfil metabólico del espermatozoide porcino fresco y criopreservado para así mejorar las biotecnologías reproductivas en esta especie.

## **CARACTERIZACIÓN CLÍNICA Y ELECTROFISIOLÓGICA DE LA ACCIÓN DIRECTA DEL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA FELINA (VIF) EN EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL DE GATOS INFECTADOS EN FORMA ESPONTÁNEA**

Passeri, C<sup>1</sup>; Suranti, A<sup>2</sup>; Castillo, V<sup>2</sup>; Fontanals, A<sup>3</sup>; Espina, C<sup>1</sup>; Gómez, N<sup>2</sup>

Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias.

El objetivo del trabajo fue poner en evidencia la acción directa del virus sobre las neuronas en los gatos enfermos por VIF en forma natural y en la fase asintomática de la enfermedad empleando los potenciales visuales y auditivos evocados en pacientes con y sin signos neurológicos. Gatos infectados naturalmente con VIF, diagnosticados por Inmuncromatografía y/o PCR, cursando la etapa de portador asintomático determinado por el porcentaje de los tipos celulares CD4+, CD8+ y su relación CD4+/CD8+ mediante citómetro de flujo. Se conformaron 2 grupos: 6 gatos con signos neurológicos y 6 gatos sin signos neurológicos. Se recolectaron los datos de los signos clínicos generales y los neurológicos durante 1 año. Se determinaron cada dos meses los valores del Hemograma, Bioquímica sanguínea y en casos específicos la determinación de oportunistas. Se evaluaron los potenciales evocados visuales (PEV) y potenciales evocados auditivos (PEA), que constituyen una respuesta a la estimulación visual o auditiva, los mismos se efectúan utilizando electrodos y se interpretan mediante un equipo ATI Nautilus. En ambos grupos se observaron: 10/12 gatos gingivitis con dificultades para comer y pérdida de peso, 10/12 linfadenopatías. 5/12 rinosinusitis, 3/12 diarrea crónica, 3/12 piodermias superficiales, 2/12 conjuntivitis, 2/12 insuficiencia renal, 1/12 uveítis y 1/12 neumonía. Todos los gatos presentaron hiperglobulinemia, en 4/12 anemia y 11/12 linfopenia. La evolución de la relación CD4+/CD8+: en el grupo con signos neurológicos la relación CD4+/CD8+ se encontró siempre disminuida. Los valores oscilaron entre 0,6 y 0,9. En el grupo sin signos neurológicos los valores de la relación CD4+/CD8+ oscilaron entre 0,5 y 0,8. En los gatos VIF+ los signos neurológicos hallados consistieron en cambios de comportamiento (dermatitis psicogénica, exceso de acicalamiento, se escondían en lugares inusuales), convulsiones parciales y tics. En estos gatos al efectuarse los PEA y PEV resultaron anormales. En los PEV se detectó disminución de la amplitud y aumento significativo de la latencia en la onda p 100. Los PEA, a lo largo del estudio, se observó un aumento del tiempo de conducción central (TCC) con valores mayores a lo normal y amplitudes disminuidas en un 30%. En el grupo sin signos neurológicos los PEA y PEV resultaron todos normales y no presentaron diferencias significativas a largo del estudio. Sí hubo diferencias significativas al comparar ambos grupos ( $p < 0,01$ ). Los potenciales evocados permiten evaluar el funcionamiento de las vías neurológicas y la integridad de las estructuras encefálicas. Se emplean como indicador funcional objetiva de las respuestas bioeléctricas neurológicas. Los potenciales evocados permiten sospechar que el virus se encuentra en el SNC y ponen en evidencia que se debe tratar con antiretrovirales que atraviesen la barrera hematoencefálica para prevenir que el SNC se transforme en un reservorio del virus y se agrave la enfermedad.

## COMPARACIÓN DE MÉTODOS DE DETECCIÓN DE CLINDAMICINA EN PLASMA FELINO: CROMATOGRAFÍA UV vs MÉTODO MICROBIOLÓGICO

Passini, S; Lorenzini, P; Aramayona, S.; Montoya, L.; Lupi, M.; Albarellos, G.

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Farmacología.

Clindamicina es un antibiótico de amplio uso en medicina veterinaria. Se administra vía oral o parenteral, la distribución es amplia y se elimina por metabolismo hepático. En el hígado, clindamicina se biotransforma en 2 metabolitos activos: sulfóxido (25% menor actividad) y N-desmetilclindamicina (4 a 8 veces mayor actividad). Para caracterizar el perfil plasmático de dicha droga es necesario emplear un método válido que correlacione adecuadamente las concentraciones medidas con las realmente presentes en las muestras. El método de detección microbiológico (mb) emplea cepas bacterianas para la obtención de concentraciones plasmáticas a través de la medición de halos de inhibición producidos por el antibiótico presente en la muestra analizada. El método cromatográfico (HPLC) mide concentraciones plasmáticas del antimicrobiano mediante su separación en base a sus propiedades físico-químicas. El método mb es más sencillo, rápido y económico con respecto al HPLC; sin embargo, la principal crítica que se le realiza es que mide actividad antimicrobiana del fármaco, siendo incapaz de discriminar entre la droga madre administrada y los metabolitos activos que se han producido. No sucede lo mismo con el método HPLC, dado que la longitud de onda y el tiempo de retención son propios de cada molécula. El objetivo de este trabajo fue comparar los métodos mb y HPLC para la detección de clindamicina en plasma felino. Se administró clindamicina (10 mg/kg) por vía intravenosa y oral a 6 felinos. Se tomaron muestras sanguíneas en tiempos predeterminados y el plasma se fraccionó en 2 alícuotas y conservó a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Junto con las muestras se construyó y almacenó una curva estándar en plasma normal de gato (20 a 0.078 mcg/ml). El método mb empleó *Kokuria rhizophila* ATCC 9341 como cepa patrón, que se incubó en agar Muller-Hinton en contacto con las muestras y curva 18h a  $34^{\circ}\text{C}$ . El método HPLC utilizó una fase móvil buffer fosfato-acetonitrilo (65:35) y las muestras se extrajeron con acetonitrilo y diclorometano. Los criterios de validación para las curvas estándar se establecieron en linealidad (dentro de las concentraciones de trabajo), precisión intra e interdía ( $<15\%$ ) y exactitud (80-120%). Se construyeron las curvas de disposición plasmática y se calcularon los principales parámetros farmacocinéticos. Las curvas estándar se compararon mediante correlación (test de Pearson) y los parámetros mediante la prueba de t-student. Ambos métodos cumplieron con los criterios de validación propuestos. La correlación entre ambas curvas resultó significativa ( $p<0,0001$ ) con un  $R^2$ : 0,9915. La linealidad y el límite de cuantificación para el método mb y HPLC fueron:  $R^2$ : 0,9942 y 0,78 mcg/ml y  $R^2$ : 0,9996 y 0,1 mcg/ml, respectivamente. No se encontraron diferencias significativas en los parámetros farmacocinéticos analizados ( $ABC_{(0-\infty)}$ ;  $V_d$ ;  $Cl_B$ ;  $T_{1/2}$ ;  $C_{p0}$ ;  $C_{m\acute{a}x}$ ;  $T_{m\acute{a}x}$ ). Para la determinación de clindamicina en plasma felino, ambos métodos el mb y el HPLC, resultaron válidos e intercambiables. Como ventaja el método HPLC alcanzó un límite de cuantificación significativamente menor al mb.

## TENSIOACTIVOS AMIGABLES CON EL AMBIENTE: UN CAMINO HACIA UNA AGRICULTURA SUSTENTABLE

Pedraza, CB<sup>a</sup>; Pessagno, RC<sup>a,b,c\*</sup>; Ojeda, CA<sup>a,b,c</sup>; Fernández Cirelli, A<sup>a,b,c</sup>

<sup>a</sup> Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra Química Orgánica de Biomoléculas. Buenos Aires, Argentina.

<sup>b</sup> Universidad de Buenos Aires. Centro de Estudios Transdisciplinarios del Agua (CETA). Buenos Aires, Argentina.

<sup>c</sup> CONICET - Universidad de Buenos Aires. Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA). Buenos Aires, Argentina.

\*rpessagno@fvvet.uba.ar

Los principios activos presentes en las formulaciones de plaguicidas tienen muy poco efecto cuando se los aplica solos. Los coadyuvantes tienen múltiples funciones relacionadas con el aumento del desempeño de estos agroquímicos. Dentro de los coadyuvantes, los tensioactivos pueden ser más dañinos para el ambiente que el mismo plaguicida. Los tensioactivos habitualmente asociados al glifosato (N-[fosfonometil] glicina) son las aminas grasas etoxiladas (AGEO), las cuales son más tóxicas que el principio activo. Las saponinas (S) son productos naturales, altamente biodegradables y se presentan seguras para el ambiente. Además presentan la ventaja de atravesar la cutícula de las hojas que son su blanco de acción. Otro tipo de tensioactivos no-iónicos obtenidos de materia prima renovable son los alquilglucósidos. Estos compuestos presentan excelentes propiedades interfaciales, total biodegradabilidad y una toxicidad prácticamente nula para el ambiente. El objetivo del trabajo fue desarrollar y evaluar nuevas formulaciones de glifosato que utilizan tensioactivos amigables con el ambiente. Las propiedades interfaciales determinadas fueron: CMC (concentración micelar crítica),  $\gamma_{CMC}$  (tensión superficial en CMC),  $\gamma_{3\%}$  (tensión superficial en concentración utilizada a campo) y  $pC_{20}$  ( $-\log$  de la concentración molar de tensioactivo requerida para disminuir la  $\gamma$  del solvente en 20 mN/m). Posteriormente se realizaron ensayos agronómicos con las mejores formulaciones obtenidas sobre *Sorghum halepense*. Las mejores formulaciones desarrolladas por nuestro equipo de trabajo fueron las que contienen alquilglucósidos y saponinas, debido a su excelente propiedad de atravesar la cutícula vegetal, siendo el formulado con 2% de alquilglucósido el que presenta un valor de  $\gamma_{3\%}$  comparable al de un producto comercial evaluado en nuestro laboratorio. En base a los resultados obtenidos se concluye que estas formulaciones preparadas a partir de recursos naturales renovables mitigan el impacto sobre el medio con rendimientos similares a los productos comerciales vigentes.

## RESULTADOS PRELIMINARES DE LA EVALUACIÓN DE ESTRÉS OXIDATIVO EN ESPERMATOZOIDES PORCINOS CRIOPRESERVADOS

Pereyra, V; Breininger, E

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA), Cátedra de Química Biológica. Universidad de Buenos Aires-CONICET, Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA). Buenos Aires, Argentina

La criopreservación está asociada con el aumento del nivel de ERO (Especies Reactivas del Oxígeno) y la consecuente generación de estrés oxidativo provocando la alteración de la funcionalidad del semen debida a daños en el ADN y alteraciones del citoesqueleto que conllevan a disminución de viabilidad celular, y pérdida diferencial de enzimas asociadas a la generación de energía produciendo alteraciones de la movilidad. El espermatozoide porcino es especialmente susceptible al daño por peroxidación lipídica debido al alto contenido de ácidos grasos insaturados en su membrana. En contraposición, este tipo celular cuenta con un sistema antioxidante complejo dentro del cual, en la especie porcina, destaca la enzima superóxido dismutasa (SOD) por sobre la actividad de la glutatión peroxidasa y catalasa. El objetivo de este trabajo fue comparar el nivel de daño oxidativo entre espermatozoides porcinos frescos y criopreservados mediante las determinaciones de actividad de SOD, peroxidación de lípidos de membrana y nivel de especies reactivas del oxígeno. Se realizaron determinaciones en muestras de tres verracos, se analizaron por la prueba de *t de student*, expresando todos los resultados en media  $\pm$  SEM. La actividad de SOD se midió por inhibición de la autooxidación de la epinefrina, mediante espectrofotometría a 480 nm durante 5 minutos, a 30°C. Se definió como unidad enzimática a la cantidad de SOD necesaria para inhibir en un 50% la autooxidación de la epinefrina. La peroxidación de lípidos de membrana se determinó por el ensayo del ácido 2-tiobarbitúrico, expresándose los resultados como nmol de TBARS (sustancias que reaccionan con ácido tiobarbiturico)/10<sup>8</sup> espermatozoides. La técnica de 2,7 diclorofluoresceína (DCHF-DA) combinada con la determinación de FDA (actividad de esterasas) se utilizó para la determinación de especies reactivas de oxígeno. Su evaluación se realizó por análisis de fotografías obtenidas en el microscopio UV al exponer las muestras a 510 nm y expresando los resultados en Unidades Arbitrarias de Fluorescencia (UAF) por espermatozoide. La actividad de SOD fue mayor ( $p < 0,05$ ) para la muestra de semen fresco ( $6433,1 \pm 375,7$  UE/10<sup>10</sup> espermatozoides) que para las muestras congeladas ( $3885,4 \pm 146,7$  UE/10<sup>10</sup> espermatozoides). Para los niveles de peroxidación los resultados muestran un menor nivel ( $p < 0,05$ ) para el fresco ( $14,1 \pm 1,7$  nmol TBARS/10<sup>8</sup> espermatozoides) que para el criopreservado ( $22,8 \pm 1,4$  nmol TBARS/10<sup>8</sup> espermatozoides). La técnica de determinación de especies reactivas está en fase de puesta a punto. Hasta el momento, se han evaluado las muestras de eyaculados frescos, obteniéndose un nivel de especies reactivas de  $5,3 \pm 0,6$  UAF. Los resultados preliminares indican que en el espermatozoide porcino criopreservado se ve afectado tanto su contenido de SOD como los niveles de peroxidación lipídica, restando por confirmar si se vería correlacionado con el nivel de especies reactivas registrado en el espermatozoide.

## AVANCES EN EL ESTUDIO DE LA CONTRIBUCIÓN DE LAS EXCRETAS ANIMALES A LA EMISIÓN DE N<sub>2</sub>O EN SUELOS DE USO GANADERO EN CHASCOMÚS

Perez, MG<sup>1, 2</sup>; Gonzalez, F<sup>1</sup>; Busto, M<sup>1</sup>; Cosentino, V<sup>2</sup>;  
Romaniuk, R<sup>2</sup>; Costantini, A<sup>1,2</sup>; Taboada, M<sup>2</sup>

1. Universidad de Buenos Aires. Facultad de Agronomía. Departamento de Recursos naturales y Ambiente. Catedra de Edafología. Buenos Aires, Argentina
2. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Instituto de Suelos, CIRN.

En los últimos años el crecimiento poblacional ha sido acompañado por un incremento en la demanda mundial de fuentes de proteína, entre ellas, la carne vacuna. Dada la magnitud de su producción ganadera, Argentina está posicionada globalmente como un país capaz de cubrir una parte del aumento de esta demanda. La Pampa Deprimida, caracterizada por la presencia de suelos de baja calidad para la agricultura, es un área de gran importancia ganadera. Históricamente considerada una zona de cría, en los últimos años, ha intensificado su manejo en busca de mayor productividad. La intensificación de la ganadería puede causar un importante impacto ambiental. Según la Tercera Comunicación Nacional sobre Cambio Climático (2015), el sector agropecuario genera el 95% de las emisiones de óxido nitroso (N<sub>2</sub>O) de Argentina, de las cuales el 31% provienen de excretas animales en sistemas pastoriles. A nivel nacional existe un déficit muy grande de información sobre emisiones de gases de efecto invernadero en todas las épocas del año. El objetivo de este trabajo, fue evaluar las emisiones edáficas de N<sub>2</sub>O y la contribución de las excretas animales a la emisión acumulada para un periodo de 40 días durante la estación invernal en un sistema ganadero ubicado en el partido de Chascomús. Para ello, se clausuraron 5000 metros cuadrados, de un lote de 30 hectáreas con vegetación de pastizal, formado por un complejo de suelos donde predominan los pertenecientes al subgrupo Natracuol típico. Allí, se utilizó un diseño con tres bloques completos al azar, siendo los tratamientos agregado de orina (0,6 L), agregado de heces (1,5 kg) y control (suelo sin excretas). Cada bloque contó con dos repeticiones. Se utilizó la metodología de cámaras estáticas. En ella, cada cámara consiste en una base de hierro enterrada en el suelo y una cubierta de PVC colocada sobre la misma durante el muestreo. Las muestras fueron tomadas diariamente con jeringa de 20 ml a través de una llave que conecta el exterior con el interior de la cámara. Una vez colectadas las muestras fueron inyectadas, mediante una bomba de vacío manual, en viales de vidrio de 13 cm<sup>3</sup>. La concentración de N<sub>2</sub>O en los viales fue medida por cromatografía gaseosa. A partir de los datos obtenidos, se calculó la emisión total acumulada de N-N<sub>2</sub>O en el período, para cada tratamiento. La carga animal fue de 2,5 eq.vaca.ha<sup>-1</sup>, siendo que la cantidad de excreción y la superficie cubierta por ella, fueron extraídas de la bibliografía. Las emisiones acumuladas durante 40 días fueron de 45 gN-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> para el suelo sin agregado de excretas y de 51 g N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> incluyendo la presencia de las excretas animales en el lote, lo que sería equivalente a hablar de un lote bajo pastoreo directo. Las emisiones acumuladas se incrementaron en un 12%, pero tomando como valores base niveles de emisión muy bajos, probablemente debido a las condiciones ambientales imperantes durante el período invernal. En esta situación el agregado de excretas al suelo no generó incrementos importantes en la emisión edáfica de N<sub>2</sub>O.



## EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE OVOCITOS PORCINOS VITRIFICADOS-ATEMPERADOS MEDIANTE LA DETERMINACIÓN DE ESPECIES REACTIVAS DEL OXÍGENO

Pinchetti, D<sup>1</sup>; Aparicio, A<sup>1</sup>; Cética, P<sup>1,2</sup>; Álvarez, G<sup>1,2</sup>; Morado, S<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Cátedra de Química Biológica, INTRA (UBA), <sup>2</sup> INPA (UBA-CONICET), Facultad Cs. Veterinarias, UBA. Buenos Aires, Argentina.

El objetivo del presente trabajo consistió en evaluar la calidad de ovocitos porcinos madurados *in vitro* vitrificados por el método de mínimo volumen Cryotech<sup>®</sup>, cuantificando luego del atemperado la producción de especies reactivas del oxígeno (ROS). Los ovarios se obtuvieron de hembras porcinas faenadas. Los complejos ovocito-cúmulus (COCs) inmaduros se obtuvieron por aspiración de folículos ováricos antrales y seleccionados bajo lupa estereoscópica. Los COCs rodeados por un cúmulus denso e íntegro fueron madurados en medio 199 con sulfato de gentamicina, fluido folicular porcino, FSH y LH, bajo aceite mineral a 39°C, 5% CO<sub>2</sub> en aire y 100% de humedad durante 48 hs y luego denudados de forma mecánica con pipeta Pasteur fina previa incubación con hialuronidasa. Los ovocitos fueron vitrificaron (n=95) utilizando crioprotectores permeables (etilenglicol, dimetilsulfóxido), componentes osmóticamente activos (trealosa) y como soporte una lámina fina para ingresar directamente al Nitrógeno líquido. Para su atemperado se utilizaron soluciones de trealosa en concentraciones decrecientes en sucesivos pasajes hasta llegar a soluciones isotónicas. Para medir ROS se incubaron en PBS adicionado con polivinilalcohol (PVA) y 2',7'-diclorodihidrodiacetato de fluoresceína (DCHF-DA). Para evaluar la actividad de esterasas un grupo de ovocitos fue incubado en PBS adicionado con PVA y diacetato de fluoresceína (FDA). Se obtuvieron microfotografías digitales con un microscopio de epifluorescencia, las imágenes se analizaron utilizando el software IMAGE J. Al ser los niveles de fluorescencia de DCHF-DA dependientes de la actividad de esterasas intracelulares, el cociente entre la luminosidad obtenida por DCHF-DA para cada ovocito y el promedio de luminosidad por FDA de cada tratamiento fue considerado como medida relativa del nivel de ROS producido por cada ovocito. Se evaluó la producción de ROS a 0, 3 y 21 hs utilizando como controles ovocitos maduros no sometidos al proceso de vitrificación-atemperado. La producción de ROS fue significativamente mayor a tiempo cero, decreciendo tanto a tiempo 3 como 21hs en frescos y en vitrificados-atemperados (P<0.05). En los vitrificados-atemperados fue significativamente mayor en cada uno de los tiempos (P<0,05). El proceso de vitrificación-atemperado aumentaría la producción de ROS de los ovocitos porcinos y dicho aumento disminuiría pero no se compensaría en el tiempo de recuperación. Es de interés analizar lo que sucede con cada ROS en particular, por lo que a futuro se continuará determinando la producción de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

## **OBTENCIÓN DE DATOS DE TEXTURAS SOBRE TIPOS DE SUELOS UTILIZANDO SISTEMAS DE INFORMACIÓN GEOGRÁFICA Y SU CORRELACIÓN CON LA PREVALENCIA DE *FASCIOLA HEPATICA* EN EL SUR DE LA PROVINCIA DE ENTRE RÍOS**

Pruzzo, CI<sup>1</sup>; Illanes, F<sup>1</sup>; Niño Uribe, Á<sup>1,2</sup>; Raffo, F<sup>3</sup>; Sanabria, R<sup>4</sup>

1. CEDIVE, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata.
2. Becario CONICET.
3. Estación Experimental Bariloche, INTA.
4. IIB INTECH Chascomús, CONICET-UNSAM. Dto. De Clínicas, FCV, UNLP.

La Fasciolosis producida por *Fasciola hepatica* es una enfermedad parasitaria que afecta particularmente a los rumiantes en regiones endémicas de Argentina. Dado que la ocurrencia de esta parasitosis depende de factores ambientales y geográficos, los sistemas de información geográfica (SIG), permiten obtener datos ambientales reales y dicha información puede ser analizada a fin de establecer patrones de riesgo. El objetivo de este trabajo fue relacionar la información obtenida de SIG y los datos de prevalencia en bovinos obtenidos en el sur de la provincia de Entre Ríos. Se realizaron muestreos de material fecal de bovinos en 6 establecimientos de Gualaguay, Gualaguaychú, Rosario del Tala y Concepción del Uruguay, en los cuales se registraron las coordenadas mediante la utilización de GPS. Para la obtención de datos georreferenciados se empleó el programa Qgis (versión 2,18). Se emplearon capas de datos de suelos de Entre Ríos descargada de la página web de GEOINTA (<http://geointa.inta.gov.ar>). Se creó una capa de puntos de las coordenadas geográficas de los lugares de muestreo. A partir de esta capa se realizaron buffers de distancia variable (denominadas zonas de influencia), proporcionales a las hectáreas de cada establecimiento. Utilizando esta nueva capa buffer se recortó la capa suelos de Entre Ríos originando la capa “tipo\_suelos\_campos”. Cada capa está vinculada a una tablas de atributos con diferentes variables, pudiendo seleccionar las de interés. De esa forma, de la capa “tipo\_suelo\_campos”, se obtuvieron los datos del área de cada clase de tipo de suelo. Conociendo el área total de cada establecimiento, se obtuvo la proporción de cada tipos de suelo por establecimiento. Estos, junto a los datos de prevalencia de cada establecimiento se volcaron en planillas de cálculo, que fueron analizados mediante correlación lineal (Pearson), resultando un  $r= 0,81$  ( $p=0,05$ ), entre las variables prevalencia y tipo de suelo franco. Esto puede indicar una tendencia a presentar mayor prevalencia de *Fasciola hepática*, en aquellos establecimientos con el tipo de suelo mencionado. Si bien esto no indica un factor de riesgo determinante, la incorporación de mayor número de variables podría ampliar este análisis y agregar precisión a este tipo de estimaciones.

## ESTUDIO DE LA SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA DE *STREPTOCOCCUS EQUI* SUBSP *ZOOEPIDEMICUS* AISLADOS DEL APARATO REPRODUCTOR DE YEGUAS

<sup>1</sup>Retamar, G; <sup>1</sup>Perez, A; <sup>1</sup>Sarcone N; <sup>1</sup>Zeni Coronel, M; <sup>2</sup>Trasorras, V; <sup>2</sup>Ferrante, A; <sup>1</sup>Etchecopaz, A; <sup>1</sup>Bustos, C; <sup>1</sup>Muñoz, A.

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, <sup>1</sup>Cátedra de Enfermedades Infecciosas. <sup>2</sup>Cátedra de Teriogenología.

*Streptococcus equi subsp. zooepidemicus* (*S. zooepidemicus*) es uno de los principales agentes de endometritis en las yeguas. Este agente forma parte de la microbiota residente de la mucosa genital equina y se lo asocia a patologías reproductivas principalmente. La endometritis bacteriana subclínica es considerada como la causa más común de infertilidad en la yegua. Los tratamientos incluyen lavajes de infusiones de antibióticos y antisépticos y muchas veces el tratamiento es empírico con antibióticos de amplio espectro y no se realiza el estudio de citología, cultivo y antibiograma. Durante las últimas décadas el uso masivo de agentes antimicrobianos en salud humana y animal, ha generado una aceleración de la aparición de resistencias. El objetivo del presente trabajo fue estudiar la susceptibilidad de *S. zooepidemicus* y conocer la resistencia que posee a los diferentes antimicrobianos. Se realizaron los antibiogramas de los aislamientos de *S. zooepidemicus* provenientes de clítoris, mucosa vaginal y útero, identificados durante el año 2017 y los resultados se adicionaron a los antibiogramas de años anteriores, con un total de 65 aislamientos. Se testearon los siguientes antibióticos: Penicilina, Cefotaxima, Trimetoprim-sulfametoxazol, Enrofloxacina, Cloranfenicol/Florfenicol y Eritromicina. Los antibiogramas se realizaron con el método de difusión en disco con 5% de sangre equina, según Bauer-Kirby recomendado por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Se observó resistencia antibiótica a Trimetoprim sulfametoxazol (36%); a Enrofloxacina (29%); a Cloranfenicol (17%) y a Eritromicina (3%). Se observó también la presencia de sensibilidad intermedia, a Enrofloxacina (55%), a Cloranfenicol, Eritromicina (26%) y a Trimetoprim sulfametoxazol (17%) y sensibilidad a antibióticos  $\beta$  lactámicos (Penicilina y Cefotaxima) (100%). Los antibióticos  $\beta$  lactámicos, hasta el momento, siguen siendo los antibióticos de elección para este agente, ya que todos los aislamientos resultaron sensibles. Las resistencias encontradas a Eritromicina, Trimetoprim-sulfametoxazol, Enrofloxacina, Cloranfenicol y Tetraciclina requieren un estudio más exhaustivo para detectar posibles genes de resistencia. Se observó sensibilidad intermedia en la gran mayoría de aislamientos, esto significa que, si bien hay sensibilidad, es necesario aumentar la dosis para que el tratamiento sea eficaz y para algunos antibióticos, este aumento de las dosis, pueden generar toxicidad. En los últimos años, como ocurre en otros agentes, se observó un aumento de la resistencia de *S. zooepidemicus* a diferentes antibióticos. Se enfatiza en la realización de antibiogramas previa a la administración de antibióticos. Esto favorece, tanto al tratamiento médico como también al uso racional de antimicrobianos, impidiendo de esta manera la aparición de resistencia antibiótica, que generalmente se correlaciona con su uso desmedido.

Este trabajo fue financiado por el proyecto UBACyT 20020130100299BA

## PRUEBA PILOTO DE UN PROTOCOLO DE EVALUACIÓN DE BIENESTAR PARA FAUNA SILVESTRE EN CAUTIVERIO

Rial, LA; Feld, A; Ferrari, HR, Racciatti, DS

<sup>1</sup> Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Bienestar Animal  
[lau.ana.rial@gmail.com](mailto:lau.ana.rial@gmail.com)

Como parte de una pasantía de la Cátedra de Bienestar Animal, se desarrolló un protocolo basado en el uso de aspectos y criterios para evaluar el bienestar de animales silvestres en cautiverio de forma científica, intentando minimizar la subjetividad. Con la finalidad de verificar esta premisa y evidenciar las fortalezas y debilidades del método, se sometió el protocolo a una prueba piloto en el Jardín Zoológico y Botánico de la Ciudad de La Plata con un grupo reducido de especies, todas pertenecientes a la familia *Felidae*. La prueba se llevó a cabo entre febrero y mayo de 2017 en Gato Montés (*Leopardus geoffroyi*), León (*Panthera leo*), Puma (*Puma concolor*), Tigre (*Panthera tigris*) y Yaguareté (*Panthera onca*). Su elección se basó en los resultados de una encuesta anónima sobre estereotipias dirigida a cuidadores de fauna silvestre de todo el mundo, de la cual surgió que los felinos constituyen el grupo más reportado como estereotipante (material no publicado), razón para suponer que tendrían un empobrecido bienestar. Se realizó una búsqueda bibliográfica sobre sus características comportamentales y sanitarias, así como las recomendaciones de alojamiento y manejo para cada una de las especies. Esta información sirvió de contraste a las observaciones realizadas por los investigadores para valorar 4 aspectos de interés: Alimentación, Alojamiento, Salud y Comportamiento-Estados afectivos. Cada especie fue evaluada al menos dos veces por el mismo observador (validación intra-observador) y al menos una vez por cada uno (validación inter-observador) durante días y horarios distintos. Estas sesiones se realizaron a ojo desnudo, por muestreo animal focal, agregando fotografías y/o filmaciones, tanto desde el área destinada al público general como desde las zonas de acceso restringido. Se utilizó una planilla por recinto y por animal. Para aquellos indicadores no observables directamente (antecedentes de salud, historial de traslados, etc), se complementó la evaluación con entrevistas a los cuidadores y veterinarios, registrándolas por escrito. Cada investigador reportó las dificultades que tuvo al utilizar la planilla, en base a lo cual se propusieron mejoras. Entre éstas se destacan aumentar el tiempo de evaluación, utilizar distintas bandas horarias para verificar las conductas de baja frecuencia y variar los contextos de observación. Asimismo, la terminología inicialmente propuesta para la calificación de los criterios de evaluación fue modificada reemplazando “mejorable” por “parcialmente adecuado”. Una vez finalizado el estudio, el protocolo resultante podría servir de modelo para ser implementado en diferentes procesos de valoración de bienestar de fauna silvestre en cautiverio, aportando a mejorar las condiciones de las instituciones zoológicas de la Argentina.

## **ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL: EVALUACIÓN DE CITOQUINAS POR INMUNOHISTOQUÍMICA DEL INTESTINO DELGADO DE NUEVE GATOS**

Ricart, MC<sup>1</sup>; Rossi, G<sup>2</sup>; Castillo, V<sup>1</sup>; Feijóo, S<sup>1</sup>; Ortemberg, L<sup>1</sup>; Fontanals, A<sup>3</sup>; Gómez, NV<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Clínica Médica de Pequeños Animales <sup>2</sup> Departamento de Ciencias Veterinarias, Universidad de Camerino;  
<sup>3</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Inmunología.

La Enfermedad Inflamatoria Intestinal (EII) representa a un grupo de desórdenes caracterizado por la persistencia de signos clínicos digestivos asociados a evidencia histológica de inflamación en el intestino delgado y grueso. La etiopatogenia no ha sido dilucidada, pudiendo deberse a una desregulación inmunológica con una inapropiada tolerancia a la flora comensal y a los antígenos dietarios, habiendo sido demostrado el aumento de citoquinas pro-inflamatorias e inmunoreguladoras en gatos con EII. La función de la IL-1 $\beta$  como citoquina pro-inflamatoria, induce la síntesis de prostaglandinas con la activación de células T y su diferenciación hacia Th17. Estas citoquinas podrían provocar una respuesta polarizada con respuesta Th1/Th2 generando la protección o promoviendo las reacciones inmunopatológicas. El objetivo fue determinar y comparar la expresión de citoquinas pro-inflamatorias y reguladoras en la mucosa intestinal y GALT de gatos sanos y con EII. A 9 gatos se les realizó el algoritmo diagnóstico de EII, se obtuvieron de 8 a 12 muestras de biopsia de cada sector del intestino delgado por endoscopia, se realizó histopatología e inmunohistoquímica (IHQ). Se utilizó un score de daño histopatológico según la destrucción y los cambios mucosos. El tejido control se obtuvo de 3 gatos a los que se les realizó eutanasia por accidentes automovilísticos que no presentaban signos gastrointestinales previos. Se cuantificó la presencia de células positivas a distintos anticuerpos en diez campos visuales a 400x por IHQ: TGF- $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-12, IL-10, IL-17 y CD3. se utilizó una cámara Javelin JE3462 y los programas Coreco-Oculus OC-TCX e Image-Pro Plus software (Media Cybernetics). Los resultados se expresan en células positivas a IHQ por 62,500  $\mu$ m<sup>2</sup>. Para comparar los grupos de gatos se utilizó el test de Mann-Whitney considerando un  $p < 0,001$ . Los gatos control presentaron score histológico entre 1 y 3, en cambio, los gatos con EII entre 9 a 30. Hubo diferencias significativas en la expresión de TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-12 y de CD3+ en los diferentes sectores intestinales evaluados de ambos grupos de gatos ( $p < 0,001$ ). No se observó expresión de células Th17+ en los gatos sanos. Hubo diferencias significativas entre los grupos en la expresión de IL-10 en el colon, pero no así en los otros sectores o en la expresión de TGF- $\beta$ . Se demostraron diferencias entre la expresión de interleuquinas en gatos sanos y con síntomas de EII. Los gatos con diagnóstico mostraron elevados niveles de TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-12. La IL-10 es una citoquina Th2 anti-inflamatoria que limita la respuesta inmune contra patógenos y, debido a nuestros resultados, su acción podría ser más importante en el colon. Se requieren más estudios de las interleuquinas para dilucidar la respuesta inflamatoria que ocurre en la EII.

## PRODUCCIÓN DE ANTÍGENOS DE IgA BOVINA POR MÉTODOS BIOTECNOLÓGICOS

Rigo, V; Buendia, C; Jar, A; Mundo, S

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Inmunología

La Inmunoglobulina A (IgA) es una glicoproteína dimérica. Predomina en las secreciones y constituye el principal mecanismo de la respuesta inmune específica a nivel de mucosa. El objetivo del proyecto es producir un anticuerpo específico para la IgA bovina mediante la producción de la cadena pesada de la IgA (cadena alfa) como proteína recombinante para ser utilizada como inmunógeno. Este trabajo se lleva a cabo en el marco de una tesis de maestría [beca Res.(CS) N° 3095/15, Maestría en Biotecnología de la UBA]. Esto constituye un desarrollo local que se aplicará para desarrollar o complementar pruebas diagnósticas de la paratuberculosis y profundizar el conocimiento sobre el papel de la IgA en las respuesta inmune del bovino en estados de salud y enfermedad. En este periodo amplificamos y clonamos tres fragmentos, que codifican para: a) la cadena pesada completa (dominios CH1, bisagra, dominios CH2 y CH3), b) la región Fc (dominios CH2 y CH3) y c) el dominio CH3 de la IgA, respectivamente. La amplificación se realizó por RT-PCR a partir del ARN total de células mononucleares de bazo obtenido en forma aséptica de la necropsia de un bovino sin enfermedad aparente. Las células se separaron por perfusión de los trozos de tejido con medio de cultivo frío (RMPI 1640®) y se purificaron por centrifugación sobre un colchón de ficoll y diatrizoato de sodio (Histopaque® 1077). El ARN se obtuvo mediante el tratamiento con TRIZOL®, y la reacción de RT-PCR se realizó utilizando oligo-dT. Se diseñaron cuatro cebadores específicos para las reacciones de PCR: tres en sentido directo, que insertan un sitio de restricción para *Bam*HI en el extremo 5' de la secuencia, y uno en sentido inverso, que inserta un sitio para *Hind*III en el extremo 3' de la secuencia. Se obtuvieron tres fragmentos de ADN (amplicones) con los tamaños esperados: 1032 pb para el fragmento (a), 725 pb para (b), y 395 pb para (c). Los amplicones se clonaron por ligación en el vector pGEM®-T Easy y los productos se utilizaron para transformar bacterias competentes *E. coli* DH5α y obtener el ADN plasmídico. Los insertos se separaron del vector T-Easy por digestión doble con *Bam*HI y *Hind*III y se transfirieron al vector de expresión pRSET-A entre estos dos sitios de restricción. En los dos casos, las muestras se enviaron a secuenciar por electroforesis capilar y se comprobó que los tres fragmentos amplificados corresponden a la secuencia de nucleótidos de la cadena alfa de la IgA bovina presente en el GenBank (#AF109167.1). Se iniciaron los ensayos de expresión de las proteínas recombinantes en bacterias *E. Coli* BL21(DE3)plysS. Hasta el momento, la eficiencia del proceso para producir la proteína ha sido poco eficiente. Por ello, estamos trabajando en optimizar las condiciones experimentales, como el tiempo de incubación de los cultivos y la concentración de IPTG con la que se estimula la síntesis de proteínas.

## CHANGES IN HEMATOLOGICAL PARAMETERS IN DOGS UNDERGOING TRAINING AFTER DIETARY SUPPLEMENTATION WITH FISH OIL AND VITAMIN E

Risso, A<sup>1,2</sup>; Pellegrino, FJ<sup>1</sup>; Relling, AE<sup>3</sup>; Álvarez, FG; Corrada, Y<sup>1</sup>

<sup>1</sup>National Scientific and Technical Research Council (CONICET), <sup>2</sup>Institute of Veterinary Genetics (IGEVET), La Plata, Argentina <sup>3</sup> Department of Animal Sciences, The Ohio State University.

Fish oils (FO) are a major source of eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA). Regular aerobic training and FO intake may induce changes in hematological parameters, improving oxygen transport through the microcirculation. This effect is potentially beneficial to improve exercise performance in dogs. However, incorporation of the EPA and DHA in membranes increases the membrane's susceptibility to lipid peroxidation, especially in combination with exercise. Effects of lipid peroxidation can be avoided by supplementing FO diets with vitamin E (VE). The aim of the present study was to assess the effect of dietary supplementation with FO alone or with VE on hematological parameters in dogs undergoing training. Using a replicate 3x3 Latin square design, six male dogs, 2 to 6 years old and 21 to 35 kg were randomly assigned into three groups for 8 weeks and fed a control diet (CG), CG supplemented with 54 mg FO/kg of body weight<sup>0.75</sup> per day (FG) or FG plus 400 mg VE (FEG). Blood samples for assessing red blood cells, white blood cells, platelets (PLT), hemoglobin, hematocrit, mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin (MCH) and mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) were collected on weeks 0, 4 and 8. Dogs were trained on a treadmill twice a week for 8 weeks. Each session was 30 minutes long, at 8 km/h speed and a 7.5% slope. The data were analyzed using SAS 9.4. In FEG, MCV (fL) at week 4 decreased compared with CG (FEG: 68.06, CG: 70.82; P<0.05). Furthermore, in FEG at week 4 MCH (pg) and MCHC (%) decreased compared with CG and FG (MCH, FEG: 23.06, FG: 24.18, CG: 24.72 and MCHC, FEG: 33.67, FG: 35.44, CG: 35.04; P<0.05). In FG, PLT (10<sup>5</sup>/μL) at week 8 decreased compared with CG (FG: 1.97, CG: 3.82; P<0.01). Although changes in platelet function have been associated with the effect of FO on blood cells, data in dogs is confusing and unclear. In the present study, 54 mg FO/kg of body weight<sup>0.75</sup> containing 4,10 mg EPA and 8,04 mg DHA decreased PLT. Therefore, the changes in MCV, MCH and MCHC could be associated with FO plus VE supplementation. However, more studies are needed to investigate the effects of FO alone or with VE with standardized level of EPA and DHA to elucidate possible appliances in dogs undergoing training.

Acknowledgment: This study was financed by Specialization in Animal Nutrition and by project V-215, College of Veterinary Sciences, National University of La Plata, FCV-UNLP.

## EVALUACIÓN DE RESULTADOS HISTOPATOLÓGICOS COMPATIBLES CON TUBERCULOSIS/MICOBACTERIOSIS EN LINFONÓDULOS DE DISTINTAS ESPECIES ANIMALES

Rivera, S<sup>(1)</sup>; Civatte, A<sup>(1)</sup>; Falzoni, E<sup>(1)</sup>; Barandiaran, S<sup>(1)</sup>; Martinez Vivot, M<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Enfermedades Infecciosas.

El estudio histopatológico es una herramienta muy útil para orientar, confirmar o descartar el diagnóstico de muchas enfermedades. En los casos de tuberculosis o micobacteriosis, en los que el cultivo bacteriológico insume un período de 2 meses, este procedimiento puede orientar el resultado final en un lapso menor. No obstante, existen ciertas dificultades y diferencias entre especies animales y agentes etiológicos que deberían tenerse en cuenta en el momento de dar el resultado final. El objetivo de este trabajo fue evaluar las lesiones histopatológicas coloreadas con hematoxilina/eosina (H/E) y Ziehl Neelsen (ZN) halladas en las muestras remitidas a la Cátedra de Enfermedades Infecciosas de la Facultad de Ciencias Veterinarias-UBA durante el año 2016, con resultados positivos a cultivos bacteriológicos. Así se utilizaron 48 muestras de linfonódulos de cerdos, bovinos, búfalos, caninos y felinos de la organoteca de la Cátedra de Enfermedades Infecciosas de la FCV-UBA recibidas durante el 2016, con resultado positivo a cultivo bacteriológico (Stonebrink y Löwenstein Jensen) y con tipificación por técnicas moleculares (PCR y Spoligotyping) que distinguen los infectados por *M. bovis* de aquellos infectados por *M. avium*. Las muestras, ya fijadas en formol al 10%, fueron procesadas e incluidas en parafina. Se realizaron cortes de 5 µ de espesor con micrótopo tipo Minot y se colorearon con H/E para observar estructura tisular; y con ZN para diferenciar bacterias ácido alcohol resistentes (BAAR). La tipificación previa por PCR empleó la secuencia de inserción hsp65 para género *Mycobacterium*, IS1245 para Complejo *Mycobacterium avium* e IS6110 para Complejo *Mycobacterium tuberculosis*. La identificación y tipificación de los aislamientos IS6110 (+) se realizó por Spoligotyping. La totalidad de las 48 muestras presentaron lesiones histopatológicas compatibles con tuberculosis o micobacteriosis (granulomas con necrosis caseosa y calcificación). De las 42 muestras positivas a *Micobacterium bovis* (*M.bovis*) se pudieron observar algunos BAAR en 22 cortes (52,38 %) coloreados con ZN; mientras que en la totalidad de las 6 muestras positivas a *M. avium* (100%) se observaron abundantes BAAR. De este modo se pudo comprobar que las técnicas histopatológicas son útiles para orientar un diagnóstico de tuberculosis o micobacteriosis en las distintas especies animales; sin embargo, la identificación de BAAR en los cortes coloreados con ZN se hace dificultoso cuando se trata de órganos infectados con *M. bovis* debido a su característica paucibacilar. Deberían realizarse cortes seriados de distintos trozos de órganos para aumentar la probabilidad de observación de BAAR para dar un diagnóstico más preciso. La negatividad en estos casos no indicaría ausencia de infección. Lo contrario ocurre en las infecciones por *M. avium*, que presentan abundantes BAAR, suministrando una mayor aproximación al diagnóstico definitivo en menor tiempo. De todos modos, la prueba de oro definitiva es el cultivo bacteriológico que permite realizar la identificación de la especie de la micobacteria.



## USO DE ANTINFLAMATORIOS NO ESTEROIDES EN FELINOS: INCLUSIÓN DEL FIROCOXIB EN PROTOCOLOS QUIRÚRGICOS

Robles, S<sup>1</sup>; Monfrinotti, A<sup>1</sup>; Passini, S<sup>1</sup>; Lupi, M<sup>1</sup>; Albarelllos, G<sup>1</sup>; Montoya, L

<sup>1</sup> Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Farmacología

El uso de antiinflamatorios no esteroides (AINEs) en medicina felina, se encuentra poco difundido en comparación con otras especies. Por tal razón, el objetivo de este trabajo fue estudiar el comportamiento farmacodinámico del firocoxib (FCX) mediante su evaluación sanguínea y posterior incorporación en protocolos quirúrgicos. Se utilizaron 6 felinos común europeo de 6 años de edad ( $4,180 \pm 0,87$  kg) clínicamente sanos (CICUAL 2013/5). El estudio se dividió en dos etapas separadas por 60 días, durante la primera se realizaron en tiempo basal chequeos clínicos, hematológicos y bioquímicos. Se les evaluó la boca y se asignó un score acorde al grado de enfermedad periodontal hallando necesario el destartraje. Se puso a punto la medición del tiempo de sangría y valoración de dolor post-operatorio en base a tablas validadas. Se administró Firocoxib (Previcox, Merial comp.) vía oral (3 mg/kg) dosificado por medio de cápsulas y 48-72 h posterior se extrajo sangre para evaluar posibles modificaciones post-tratamiento. En la segunda etapa un mismo operador realizó el destartraje con un equipo Ultrasonido Ultratec 5000 con igual intensidad, independientemente del grado de odontolitiasis de los felinos durante un protocolo anestésico por infusión continua intravenosa. Los animales fueron separados aleatoriamente en dos grupos A y B, medicados con antibiótico, intubados y mantenidos con fluidos y 3 de ellos fueron premedicados con FCX 2-3 h previo al procedimiento (Grupo B). Se monitoreó tiempo de sangría, glucemia, parámetros hemodinámicos y neurológicos. Se estudió el tiempo y forma de recuperación mediante la filmación del patrón de comportamiento durante períodos preestablecidos por 24 h. Posterior al procedimiento (24-48 h) se evaluaron los valores de sangre y bioquímica sanguínea. Los valores hallados de las variables categóricas fueron sumados de forma tal de llegar a describir un score total para cada tiempo. Las diferencias para cada variable en los distintos tiempos entre A, y B fueron analizadas mediante un test no paramétrico y los scores totales obtenidos fueron comparados utilizando un ANOVA para las diferencias y un Tukey post-test. Durante la primera etapa, los chequeos clínicos, hematológicos y bioquímicos no presentaron cambios posteriores a la administración del FCX, al igual que el tiempo de sangría que se mantuvo dentro de los valores de referencia para la especie. Cuando se usó el FCX en el destartraje no produjo efectos colaterales durante y posterior al procedimiento. La glucemia no presentó diferencias significativas entre ambos grupos (A y B). El tiempo de sangría mostró un leve aumento no significativo durante la cirugía posterior a la administración de FCX, aun así dentro del rango de referencia. A partir de las filmaciones, si bien el score total obtenido para los distintos tiempos, no mostraron diferencias significativas, algunas variables lograron valores menores en el grupo B. Estudios complementarios son necesarios para continuar con el estudio del comportamiento de los AINEs en la especie felina durante procedimientos quirúrgicos.

## RELEVAMIENTO DE CONOCIMIENTOS SOBRE SANIDAD EN TAMBOS PERIURBANOS DE LA CIUDAD DE VENADO TUERTO.

<sup>1</sup>Rodriguez Molina, M; <sup>1</sup>Vallone, C; <sup>1</sup>Biolatto, R; <sup>1</sup>Vallone, R

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Veterinarias. U.N.R. <sup>2</sup>Centro Latinoamericano de Estudios de Problemáticas Lecheras (CLEPL). [carla.vallone@unr.edu.ar](mailto:carla.vallone@unr.edu.ar)

Este trabajo presenta como población objetivo siete Agricultores Familiares que producen leche para autoconsumo y venden el excedente. El objetivo es relevar los conocimientos previos sobre sanidad. Se elaboró una entrevista semiestructurada conformada por quince preguntas sobre enfermedades puntuales, medidas sanitarias, dificultades para ejecutarlas e importancia que el productor le da a la sanidad y a las medidas de bioseguridad. Para el análisis de datos se empleó metodología cuali-cuantitativa. Del total de los productores entrevistados, el 86,5% (6/7) conoce la existencia de enfermedades zoonóticas. Con respecto al consumo de leche cruda como vía de transmisión de enfermedades, el 29% (2/7) desconocían este suceso, mientras que el 71% (5/7) conocía al menos una enfermedad transmitida por esta vía. Solo dos productores conocían la Aftosa como una enfermedad de importancia en el rodeo bovino. Sobre el conocimiento de las medidas empleadas para el control y erradicación de estas enfermedades, su obligatoriedad y la ejecución de las mismas mediante el Análisis Serológico de Brucelosis, Prueba cutánea de Tuberculina, Vacuna de Brucelosis en terneras y Vacuna de Aftosa en el rodeo el 71% (5/7) expresó conocerlas y ejecutar dichas medidas, mientras que el 29% (2/7) las desconocía y no ejecutaban ninguna. De los cinco productores que llevan a cabo las medidas sanitarias solo tres realiza vacunación de carbunco. El 71% (5/7) considera importante estas medidas debido a su obligatoriedad, sólo uno hace mención que son enfermedades zoonóticas, el 29% (2/7) restante no les parece importante. En cuanto a las dificultades encontradas para llevarlas a cabo, un 44% (3/7) encuentra como dificultad su costo económico, el 13,5% (1/7) no las realiza por falta de tiempo, el 13,5% (1/7) no las realiza por falta de un profesional veterinario, el 13,5% (1/7) de los productores se le dificulta por falta de instalaciones adecuadas y sólo el 13,5% (1/7) las realiza sin dificultad. Con respecto a medidas de bioseguridad para prevenir la introducción de estas enfermedades a los rodeos, el 56% (4/7) no tiene en cuenta la sanidad de animales nuevos introducidos al rodeo y solo el 44% (3/7) verifica previamente la sanidad de los animales introducidos. En el manejo de abortos el 44% (3/7) no utiliza guantes para su manipulación, mientras que el 56% (4/7) si. Ningún productor realiza un tratamiento adecuado de los restos de abortos o cadáveres de animales muertos. Todos hierven la leche previo a su consumo y el 56% (4/7) conoce métodos de pasteurización casera. Se concluye que la invisibilización de esta realidad es más riesgosa que la realidad en sí misma, limita el acceso del estado en una población donde este accionar se evidencia como una necesidad.

## IMPACTO DE LA PRESENCIA DE MICROCONTAMINANTES SOBRE EL AGUA DE BEBIDA Y EL FORRAJE EN LA PRODUCCIÓN GANADERA

Rodríguez, MS<sup>2</sup>; Fernández-Cirelli, A<sup>1,2,3</sup>; Pérez-Carrera, A<sup>1,2,3</sup>.

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Química Orgánica de Biomoléculas, Buenos Aires, Argentina.

<sup>2</sup>Universidad de Buenos Aires – CONICET. Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA), Buenos Aires, Argentina.

<sup>3</sup>Universidad de Buenos Aires, Centro de Estudios Transdisciplinarios del Agua (CETA), Buenos Aires, Argentina.

La disponibilidad y calidad de los recursos hídricos y edáficos, en cuanto a su composición y cantidad de nutrientes, son fundamentales para la salud del ganado bovino. La exposición a microcontaminantes puede tener un impacto negativo en la salud y producción de los animales, pudiéndose acumular en diferentes tejidos de los animales y biotransferirse a productos de consumo humano en concentraciones de riesgo. En la valoración de la aptitud de dichos recursos no se suelen tener en cuenta los efectos sinérgicos y/o antagónicos entre los componentes químicos, que pueden modificar su calidad. Los bioensayos permiten evaluar de manera integral el potencial tóxico de los diferentes componentes de la muestra. Uno de los principales objetivos de mi Tesis es aportar información acerca de la presencia de microcontaminantes en suelo y agua en la zona oeste de la provincia de Buenos Aires y su impacto sobre la calidad de agua de bebida animal. Para esto, se colectarán muestras de establecimientos ganadero ubicados en la zona oeste de la provincia de Buenos Aires, se realizarán análisis físico-químicos y cuantificación de elementos traza en las muestras de suelo y agua. Se realizarán bioensayos de toxicidad aguda, en los que se comparará la respuesta de los mismos ante variaciones de los parámetros físico-químicos relevantes para la valoración de la aptitud del suelo y agua para consumo animal (pH, STD, NO<sub>3</sub>, etc) y por la presencia de elementos traza. Los elementos traza inorgánicos se cuantificarán por espectrofotometría de emisión atómica, utilizando un Espectrómetro de Emisión Atómica por Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICP-OES). En el caso de la cuantificación de As se utilizará acoplado a un generador de hidruros. Se evaluarán diferentes marcadores reproductivos, morfológicos y bioquímicos, a fin de determinar cuáles son de mayor utilidad. Se realizarán análisis de la toxicidad aguda y genotoxicidad de las muestras de agua mediante ensayo en *Lactuca Sativa*, *Allium cepa*, *Lemna minor* y *Selenastrum sp.* Análisis de toxicidad aguda y genotoxicidad en muestras de suelo mediante el ensayo en *Triticum aestivum*, *Sorghum vulgare*, *Avena sativa*, *Phaseolus* y *Glycine max.* Análisis de muestras de sangre de micronúcleos con bloqueo de citocinesis.

## **PRESENCIA DE ELEMENTOS TRAZA EN AGUA Y SEDIMENTOS DE DIFERENTES AMBIENTES ACUÁTICOS DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES**

Rodríguez Vida, J; Thompson, G; Fernández Cirelli, A.

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias. Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA-UBA-CONICET)/Centro de Estudios Transdisciplinarios del Agua (CETA-UBA).

La provincia de Buenos Aires es una extensa llanura con amplia producción agrícola y ganadera, en la que se emplazan numerosos centros urbanos. Las actividades antrópicas, sumadas a diversos procesos naturales, liberan al ambiente diferentes elementos traza que pueden llegar a los cuerpos de agua superficiales. En ellos, los elementos traza pueden mantenerse en suspensión o precipitar hacia los sedimentos. Desde estos compartimentos se transfieren hacia las redes tróficas, pudiendo generar problemas de toxicidad tanto para los peces como para las personas que los consumen. En este trabajo se planteó como objetivo determinar la presencia de varios elementos traza en agua y sedimentos en tres cuerpos de agua de la provincia. Los sitios elegidos fueron la laguna de Lobos (35°16'S; 59°07'O), la laguna de Gómez (34°39'S; 61°01'O) y el Río de la Plata (34°57'S; 57°29'O). Se determinó la concentración de As, Mo, V, Cd, Cr, Pb, Ni, Mn, Fe y Zn, mediante ICP-OES, según protocolos APHA y EPA. Los resultados obtenidos variaron según el sitio de muestreo. En el agua, el Fe registró siempre la mayor concentración, con un rango de 1,01 – 0,37 mg/l, seguido por el Mn (0,22 – 0,064 mg/l) y el Zn (0,04 – 0,02 mg/l). Mo y V se detectaron en la laguna de Lobos (0,11 y 0,05 mg/l respectivamente) y en la laguna de Gómez (0,021 y 0,05 mg/l respectivamente), pero sus concentraciones fueron inferiores al límite de detección del ICP en el Río de la Plata. El As se detectó solamente en la laguna de Gómez (0,06 mg/l). Cd, Cr, Pb y Ni no fueron detectados en ninguno de los ambientes. En los sedimentos, el Fe fue el de mayor concentración en los tres ambientes (4900 – 3400 mg/kg), seguido por el Mn (94,0 – 71,6 mg/kg) y el Zn (17,9 – 14,5 mg/kg). Cr, Pb, Ni y V presentaron valores relativamente similares (4,5 – 3,2 mg/kg; 3,3 – 2,2 mg/kg; 4,5 – 1,8 mg/kg y 16,4 – 11,3 mg/kg respectivamente). El As mostró un valor más alto en la laguna de Gómez (15,5 mg/kg) que en los otros dos cuerpos de agua (5,1 – 4,9 mg/kg). El Mo fue el de menor concentración en los tres ambientes (0,25 – 0,20 mg/kg). La concentración de Cd fue siempre inferior al límite de detección del equipo. Todas las concentraciones de sedimentos están referidas a peso seco total. Estos resultados muestran que los sedimentos funcionan como reservorios de elementos traza, ya que sus concentraciones exceden en varios órdenes a las del agua, sugiriendo que las especies de peces que se alimentan de organismos, o materia orgánica asociada al fondo, presentarían mayores concentraciones de estos elementos que aquellas especies que se alimentan de organismos asociados a la columna de agua.

## DIVERSIDAD DE PECES EN LAS CUENCAS DE LOS RÍOS ACARAGUÁ Y YABOTY (MISIONES)

Rolón, ME<sup>1</sup>; Avigliano, E<sup>1</sup>; Rosso, JJ<sup>2</sup>; Mabragaña, E<sup>2</sup>; Volpedo, A<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA-UBA-CONICET), Buenos Aires, Argentina.

<sup>2</sup>Grupo de Biotaxonomía Morfológica y Molecular de Peces, Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras (IIMyC-CONICET), Universidad Nacional de Mar del Plata, Argentina

<sup>3</sup> Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Centro de Estudios Transdisciplinarios del Agua (CETA-UBA) , Buenos Aires, Argentina.

Misiones es la provincia con mayor biodiversidad de peces de Argentina, sin embargo, son escasos los trabajos en relación a esta temática. El objetivo de este trabajo es estudiar la diversidad de peces presentes en las microcuencas de los ríos Acaraguá y Yabotí, los cuales son utilizados para el consumo humano y como especies ornamentales. En Mayo (2016), Octubre (2016) y Abril (2017) se colectaron peces en los arroyos Ramos y Acaraguá (microcuenca del Acaraguá), departamento Oberá, utilizando redes de enmalle, arrastre y trampas. Los peces fueron identificados a nivel específico y se calculó su abundancia relativa. Los resultados evidenciaron la presencia de caraciformes del género *Astyanax*, y de siluriformes como *Hemiancistrus*, *Ancistrus*, *Rinelocaria* e *Hypostomus* en mayo y octubre (2016). Además, se observó la presencia de cíclidos de importancia ornamental como *Gymnogeophagus lipokarenos* (4%) en octubre (2016), siendo este el primer registro para el país. En abril (2017), si bien los caraciformes (71%) siguen siendo el grupo más abundante, las especies dominantes fueron del género *Diapoma* (31%), *Bryconamericus* (22%) y *Astyanax* (14%). Dentro de los siluriformes (14%) las especies con mayor abundancia pertenecen a los géneros *Hemiancistrus* (9,3%), *Ancistrus* (2%) y *Rhamdella* (2%). En diciembre (2016) y Marzo (2017) se realizaron relevamientos en la reserva de Biosfera Yabotí (microcuenca del Yabotí) (departamentos de Guaraní y San Pedro). Los resultados mostraron una mayor abundancia de caraciformes de los géneros *Diapoma*, *Astyanax* y *Bryconamericus*. Además, se capturaron cíclidos de importancia ornamental de los géneros *Australoheros* (2,8%), *Crenicichla* (1,8%) y *Gymnogeophagus* (1,8%). En marzo (2017) la mayor abundancia también estuvo asociada a caraciformes, sin embargo, se han capturado varios siluriformes como *Hemiancistrus* (4,7%), *Ancistrus* (2,3%) y *Rinelocaria* (0,8 %). Los resultados muestran que la mayor abundancia ictícola está representada por los órdenes Characiformes y Siluriformes, independientemente de la época del año y de la microcuenca estudiada.

## EXTRACCIÓN DE MICOBACTINA Y EFICIENCIA EN MEDIO DE CULTIVO LÍQUIDO

Romero, MA<sup>1,2</sup>; Moyano, ED<sup>3,4</sup>; Santangelo, MP<sup>4</sup>; Travería, GE<sup>2</sup>

<sup>1</sup>CICPBA. <sup>2</sup>CEDIVE, Chascomús. <sup>3</sup>CONICET. <sup>4</sup>INTA Castelar.

La micobactina es un sideróforo necesario para el crecimiento *in vitro* de *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (Map), agente causal de la paratuberculosis. Es un derivado del salicilato, hidrofóbico, producido por ciertos tipos de micobacterias. Este producto se utiliza en laboratorios de diagnóstico ya que el cultivo bacteriológico es la técnica diagnóstica de oro para la enfermedad. La micobactina J® es utilizada de rutina y es importada y muy costosa, lo que limita la utilización del cultivo como técnica diagnóstica. El objetivo del trabajo fue producir y extraer diferentes tipos de micobactina y probar su eficiencia.

La masa bacteriana de *Mycobacterium avium* subsp. *avium* (Maa) y *Mycobacterium phlei* (Mp) se produjo en dos medios de cultivo líquidos distintos, caldo glicerinado y Dorset, y de *Mycobacterium smegmatis* (Ms) en un medio de cultivo bifásico glicerinado. Se extrajo micobactina de cada uno mediante la técnica de Snow (1970). Luego se probó la utilización de las distintas micobactinas en el medio de cultivo líquido descrito por Whittington and col (2013) con las modificaciones de Romero and col (2015). Se utilizaron tubos con medios de cultivo control positivo con micobactina J® y negativo sin micobactina, además de los tubos con las micobactinas propias de la experiencia. En un primer ensayo se probó la eficiencia de cada una realizando un repique a partir de un cultivo líquido positivo. En este primer ensayo hubo crecimiento en todos los tubos, incluso en el tubo sin micobactina, lo cual evidencia un cambio en el comportamiento de estas dos cepas una vez que desarrollan en este medio de cultivo líquido, de manera que pierde la dependencia de micobactina para su desarrollo. Posteriormente sembramos en los tubos dos muestras de materia fecal para el primoaislamiento de animales con signología clínica de la enfermedad. En este segundo ensayo ambas muestras crecieron en el medio de cultivo con micobactina J® a los 15 días y ninguna creció en el medio sin micobactina, lo cual aportó confiabilidad a la experiencia. También hubo desarrollo a los 15 días en los tubos con la micobactina producida por Maa crecida en caldo glicerinado, seguida en importancia por los tubos con la micobactina producida por Mp crecida en Dorset, donde tardaron una semana más en desarrollar. En los medios de cultivo con micobactina producida por Maa crecido en Dorset, Ms en medio bifásico y Mp crecido en caldo glicerinado no hubo desarrollo. Si bien es necesario realizar más pruebas para purificar y cuantificar las micobactinas extraídas, este trabajo demuestra que pueden ser efectivas, que su efectividad se ve afectada no solo por la micobacteria que la produce sino también por el medio de cultivo utilizado para el desarrollo de esa micobacteria y también demuestra la pérdida de dependencia de micobactina para el desarrollo de estas dos cepas de Map bajo ciertas condiciones.

## **ESTUDIO DE LA TERAPIA TEMPRANA CON ANTICUERPOS ANTI-TNF ALFA DESARROLLADOS EN LLAMAS EN UN MODELO DE RATAS CON ARTRITIS INDUCIDA**

Rubatino, F; Caggiano, N; Lastra, Y; Ferretto, A; Pareja, R;  
Gullace, F<sup>1</sup>; De Simone, E; Chiappe Barbará, A

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Fisiología Animal.

<sup>1</sup> Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Bioterio Central. Buenos Aires. Argentina. e-mail: edesimone@fvvet.uba.ar

La osteoartritis (OA) es una de las artropatías más comunes en equinos deportivos, generando claudicación y dolor. La OA puede diagnosticarse en forma tardía mediante técnicas por imágenes y en forma temprana a través de biomarcadores como citoquinas y metaloproteasas. El TNF-alfa juega un rol central en la evolución de la enfermedad estimulando la liberación de otras citoquinas y contribuyendo así al desarrollo de artritis crónica. El interés de utilizar anticuerpos de llama se debe a que, a diferencia de otras especies, poseen en el suero anticuerpos con la estructura clásica y anticuerpos formados únicamente por cadenas pesadas. Estos últimos pueden reconocer epitopes de difícil acceso para los anticuerpos convencionales. La terapia con anticuerpos para inhibir el TNF-alfa en una fase temprana permitiría disminuir la producción de citoquinas proinflamatorias y metaloproteasas (MMPs) demorando de esta manera la progresión de la OA. El objetivo del trabajo es evaluar, en un modelo murino de artritis, el perfil de citoquinas y proteasas en animales no tratados y tratados con anticuerpos de llama anti-TNF-alfa. Para eso se utilizaron ratas con artritis inducida mediante adyuvante intraarticular en la articulación femorotibiorotuliana. Se dispuso de dos grupos, no tratados (n=18) y tratados que fueron previamente inoculadas con anticuerpos anti-TNF-alfa de llamas (n=18). Se tomaron muestras de suero y homogenato articular al día 0, 2, 7 y 14 y se evaluaron citoquinas proinflamatorias mediante ELISA y MMP a través de zimografía de gelatina. En el día 2 se observaron diferencias significativas para la IL-1 en suero ( $p<0,05$ ) e IL-6 en homogenato ( $p<0,05$ ) y en las MMP 2 ( $p<0,01$ ) y MMP 9 ( $p<0,001$ ) en suero y homogenato. Mientras que en el día 7 solo se observó diferencia significativa en la IL-4 en suero ( $p<0,001$ ). El día 14 se observó diferencia significativa en el TNF-alfa entre el grupo no tratado ( $200.22 \text{ pg/ml} \pm 20.39$ ) y el tratado ( $104.82 \text{ pg/ml} \pm 31.20$ ) ( $p<0,05$ ) en suero, también en la IL-6 en homogenato ( $p<0,01$ ) y la MMP-2 en suero ( $p<0,05$ ). Como conclusión, podemos afirmar que la terapia anti-TNF-alfa desarrollada en llamas pueden ser considerada en el tratamiento temprano de OA experimental murina ya que se observaron diferencias significativas para la mayoría de las variables evaluadas a partir del día 2 y estas diferencias también se mantuvieron, para algunas variables, hasta el día 14.

## USO DE LA SALMUERA COMO ALTERNATIVA EN LA CONSERVACIÓN CADAVÉRICA

Russo, PC; Borges Brum G; Bosco, A; Candotti, G; Diaz, M; Miño, M; Paltenghi Ceschel, A; Pellegrino, FC; Vidal Figueredo, R; Blanco, CJ

Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Anatomía. Buenos Aires, Argentina.

Las nuevas tendencias en cuanto al uso racional del formaldehído como agente de fijación y conservación del material cadavérico en Anatomía hacen necesario buscar técnicas que permitan su utilización con mínimos riesgos de salud y ambientales. Se investigó para la fijación la aplicación de soluciones fijadoras formoladas combinadas con salitre ( $\text{NO}_3\text{Na}_2$  y  $\text{NO}_3\text{K}_2$ ), y el uso de soluciones conservadoras conformadas por concentraciones variables de sales ( $\text{ClNa}$ ,  $\text{NO}_3\text{Na}_2$ ,  $\text{NO}_3\text{K}_2$ ), y azúcares (sacarosa). Se utilizó como control un esquema de fijación/conservación de solución formolada al 10%. En el desarrollo experimental se probó un esquema de fijación con solución formolada al 5% y 2% en soluciones salinas de nitratos y/o cloruro de sodio. Para la conservación se utilizaron soluciones salinas puras y combinadas con soluciones de formol menores al 5%. La refrigeración se utilizó durante el proceso de fijación y en la preservación con fines comparativos. Estas combinaciones de soluciones fijadoras/conservadoras se probaron sobre material cadavérico de diferentes especies (caballo, bovino, perro, gato, cerdo) y en diferentes condiciones (especímenes completos, disecados y piezas anatómicas aisladas). Se evaluaron luego las características organolépticas de las preparaciones en relación a su utilidad como material de estudio anatómico. Las piezas fueron conservadas por períodos variables de tres años a seis meses. En las preparaciones de especímenes completos más antiguas se observó el desprendimiento del pelo pero la piel, el tejido musculoesquelético y las vísceras se conservaron sin alteraciones importantes manteniendo tanto sus características mecánicas (firmeza y flexibilidad) como estéticas (color y aspecto). En órganos especialmente difíciles de conservar (como pulmones, páncreas y testículo) se obtuvieron resultados variables, en algunos casos los pulmones mantuvieron su color y elasticidad pudiendo ser insuflados aún después de la fijación pero en otros las vísceras parenquimatosas (testículos) mostraron cierta pérdida de consistencia. El uso de soluciones salinas de nitratos, cloruro de sodio y sacarosa (salmuera) en preparaciones del sistema locomotor mostró muy buenos resultados en la conservaciones del color, la textura y la flexibilidad de tendones. La facilidad de disección de las piezas una vez fijadas fue otra de las características evaluadas. Ninguno de los disectores reportó modificaciones apreciables en estas características. Se concluye que la utilización de sales en la formulación de soluciones formoladas permite disminuir las concentraciones del formol, favoreciendo la confección de preparados anatómicos más inocuos frente a la salud humana y de menor impacto ambiental; se reducen los costos, al utilizar menos formol en comparación al costo de la salitre y la sal.



## **EXPRESIÓN DE ZnT8 EN *E. COLI* Y SU APLICACIÓN EN UN INMUNOENSAYO NO RADIOMÉTRICO PARA EL DIAGNÓSTICO DE DIABETES MELLITUS AUTOINMUNE**

Sabljić, AV; Faccinetti, NI; Guerra, LL; Bombicino, SS;  
Iacono, RF; Poskus, E; Trabucchi, A; Valdez SN

Cátedra de Inmunología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA.  
Instituto de Estudios de la Inmunidad Humoral Prof. Ricardo A Margni (IDEHU),  
CONICET-UBA

La diabetes mellitus (DM) tipo 1 es un trastorno autoinmune que se origina por una pérdida de la tolerancia hacia componentes propios de las células beta pancreáticas productoras de insulina, lo cual lleva a la destrucción de estas células por acción de los linfocitos T citotóxicos. La mayoría de los pacientes con reciente diagnóstico de DM tipo 1 tiene en circulación autoanticuerpos dirigidos contra diferentes antígenos de las células beta pancreáticas, entre los cuales se encuentran los que presentan especificidad hacia la isoforma 8 del transportador de Zn (ZnT8) específico de célula beta. La detección de autoanticuerpos dirigidos contra ZnT8 (ZnT8A), en combinación con los marcadores clásicos, permite incrementar la sensibilidad diagnóstica de autoinmunidad en pacientes con DM tipo 1 y en LADA (diabetes autoinmune latente del adulto). El objetivo del presente trabajo fue desarrollar un inmunoensayo no radiométrico para la detección de ZnT8A, empleando ZnT8 humano recombinante expresado en un sistema procariota de alto rendimiento. Un heterodímero del dominio C-terminal de ZnT8 (aa 268-369) formado por dos monómeros que difieren en el aminoácido de la posición 325, teniendo uno Arg y el otro Trp se expresó en *E. coli* (cepa GI724) como proteína de fusión con Tiorredoxina (TrxZnT8). La proteína de fusión se purificó por cromatografía de afinidad a partir de los cuerpos de inclusión. Empleando dicha proteína, se desarrolló un ELISA Doble Paratope con preincubación. Para la optimización del ensayo se emplearon 69 sueros humanos normales y 53 sueros de pacientes diabéticos tipo 1 (analizadas previamente por el método radiométrico de referencia). Para ello, se preincubó durante toda la noche a 4 °C TrxZnT8-Biotina con los sueros bajo estudio; luego se incorporaron los preincubados sobre una placa en la que se había inmovilizado TrxZnT8. Así los anticuerpos presentes en el suero de los pacientes, se unieron a la TrxZnT8 inmovilizada en la placa de ELISA y a la TrxZnT8-Biotina soluble. Finalmente se detectó el inmunocomplejo por el agregado de avidina-peroxidasa. En cuanto a la producción de ZnT8 en *E. coli* se alcanzó un rendimiento de  $\approx 1,40$  mg TrxZnT8/L cultivo con una pureza  $\approx 96\%$ . El ELISA desarrollado alcanzó una especificidad del 97% y una sensibilidad relativa al método de referencia del 58,5%, con señales de DO que fueron de 0.04 a 0.66, y una mediana de 0.29. En conclusión, se logró expresar eficientemente TrxZnT8 en *E. coli* y desarrollar un método de bajo costo, no radiométrico y ambientalmente inocuo para la evaluación de ZnT8A, fácilmente aplicable en laboratorios de mediana y baja complejidad operativa.

## FARMACOCINÉTICA Y LLEGADA A LECHE DE LA MARBOFLOXACINA TRAS SU ADMINISTRACIÓN A CABRAS AL INICIO DE LA LACTACIÓN

Sánchez Larrañaga, J; Galotta, L; Esmoris, S; Kreil, V;  
Tarragona, L; Veksler Hess, J; Ambros, L

Universidad de Buenos Aires, Facultad Ciencias Veterinarias - INPA- UBA-CONICET

La marbofloxacina es una fluoroquinolona de uso exclusivo en animales. Si bien, no está indicado su uso durante el período de lactación, sus características farmacocinéticas (amplia distribución y favorable vida media) así como su espectro, han hecho que sea administrada frecuentemente en forma extra-rótulo. El estudio del perfil farmacocinético de una droga es imprescindible para la instauración de una terapia racional, asimismo la determinación de la llegada a leche, permitirá determinar, además de su eficacia para el tratamiento de infecciones intramamarias, períodos de retirada adecuados. Los objetivos del presente trabajo fueron caracterizar el perfil farmacocinético y la llegada a leche de la marbofloxacina administrada por vía intramuscular a cabras al inicio de la lactación. Se utilizaron 5 cabras Anglo-nubian de tercera lactación (peso  $48,40 \pm 14,50$  kg) (producción de leche diaria  $1,10 \pm 0,29$ ). La experiencia fue realizada a los  $6 \pm 2$  días después del parto. Cada animal recibió, inmediatamente después del ordeño, una dosis por vía intramuscular de 2 mg/kg de marbofloxacina al 1% (Laboratorio Río de Janeiro). Se tomaron muestras de sangre (2 ml) de la vena yugular a tiempos predeterminados durante 24 horas; las muestras de leche (2,5 ml proveniente de ambas glándulas mamarias) fueron tomadas cada 12 horas, en coincidencia con los ordeños. En ambas matrices biológicas, las concentraciones de la droga fueron cuantificadas mediante el método microbiológico utilizando *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 10031) como microorganismo patrón. Las curvas de disposición plasmáticas fueron analizadas por métodos no lineales, utilizando el programa informático PcNonlin 4.0. (Lexington, USA). El protocolo empleado ha sido aprobado por el Comité de Investigación para Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio, FCV, UBA. Los perfiles de concentración plasmática en función del tiempo fueron analizados a través de un modelo no compartimental. Con la metodología empleada, pudieron detectarse concentraciones plasmáticas de droga entre 8 y 10 horas post-administración, y en leche únicamente en las muestras obtenidas durante el primer ordeño. El valor de los principales parámetros farmacocinéticos fue: Concentración máxima ( $C_{max}$ )  $0,68 \pm 0,15$  µg/ml, tiempo máximo  $2,70 \pm 0,84$  h; vida media  $3,33 \pm 1,16$  h, área bajo la curva (ABC)  $5,15 \pm 1,87$  µg·h/ml; tiempo medio de residencia  $6,09 \pm 1,63$ . En leche la concentración obtenida fue de  $0,43 \pm 0,16$  µg/ml. Teniendo en cuenta que las fluoroquinolonas son antimicrobianos concentración dependiente y, que su eficacia queda garantizada con valores de  $ABC/CIM > a 125$  y  $C_{max}/CIM > 10$ , los resultados obtenidos en este trabajo demuestran que, en cabras, la dosis empleada podría ser útil para el tratamiento de infecciones causadas por bacterias con  $CIM \leq a 0,03$  µg/ml tal es el caso de enterobacterias o *Pasteurella* sp. Futuros estudios serían necesarios para establecer un período de retirada adecuado para este antimicrobiano.

Este trabajo forma parte del proyecto UBACyT 20020130200106BA.

**PUESTA A PUNTO DE LA TÉCNICA DE *MULTILOCUS SEQUENCE TYPING*  
PARA CARACTERIZACIÓN DE AISLAMIENTOS ARGENTINOS DE  
*STREPTOCOCCUS EQUI* SUBSP *ZOOEPIDEMICUS*. Comunicación preliminar**

Sarcone, N; Retamar, G; Perez, A; Bustos, C; Guillemi, E; Muñoz, A

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias Cátedra de Enfermedades Infecciosas.

*Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* (*S. zooepidemicus*) es un patógeno oportunista, considerado parte de la microbiota normal de nasofaringe y vagina. Se lo asocia con enfermedades como endometritis, placentitis, neumonía, entre otras. *S. zooepidemicus* posee gran variabilidad genética, por lo tanto, para poder discriminar aislamientos se recurre al estudio de genes *housekeeping*; estos genes no sometidos a presión de selección, son conservados y generalmente asociados a funciones básicas de los organismos. Para la genotipificación de *S. zooepidemicus*, la técnica de *Multilocus sequence typing* (MLST) es la herramienta más utilizada internacionalmente. El objetivo fue poner a punto la técnica de MLST para caracterizar aislamientos argentinos de *S. zooepidemicus*. Se utilizaron aislamientos de *S. zooepidemicus* del cepario de la Cátedra de Enfermedades Infecciosas, FCV, UBA, obtenidos a partir de muestras de mucosa vaginal, clítoris, útero, mucosa nasofaríngea, pulmón y linfonódulos. Se extrajo el ADN por ebullición y se confirmó su identidad por biología molecular con la amplificación del gen *sodA*. Para realizar la técnica de MLST se amplificaron por PCR los fragmentos de siete genes de *S. zooepidemicus* según fue descrito por Webb (2008); a saber: carbamato kinasa (*arcC*), ribonucleosido-difosfato reductasa (*nrdE*), propyl-tRNA sintetasa (*proS*), signal peptidasa I (*spi*), thymidylato kinasa (*tdk*), triosefosfato isomerasa (*tpi*) y acetyl-CoA acetyltransferasa (*yqiL*). Posteriormente se procedió a la purificación de los productos de PCR por precipitación con EDTA 125 mM y etanol absoluto para su posterior secuenciación por electroforesis capilar en la Unidad de Genómica del Instituto de Biotecnología CICVyA del INTA Castelar. Para la edición, el análisis y el alineamiento de las secuencias nucleotídicas se trabajará con los softwares BioEdit, Nucleic Acid Sequence Massager, CAP3 Sequence Assembly Program y Clustal Omega versión 1.2.1. Se logró amplificar los 7 genes en los 6 aislamientos trabajados. Se seleccionó el perfil de los siete genes para uno de los aislamientos (UBA47b1) y se enviaron a secuenciar los productos de las reacciones de PCR previamente purificados, confirmando con las secuencias que eran los genes buscados. Los datos de secuenciación se compararán las secuencias obtenidas con las publicadas en GenBank (National Center for Biotechnology Information, NCBI). Para determinar los alelos de los aislamientos locales se utilizará la base de datos internacional disponible en <http://pubmlst.org/szooepidemicus/>. Hasta el momento, existen alrededor de 366 secuencias diferentes de *S. zooepidemicus* en el mundo. El conocimiento de la epidemiología molecular de este agente a nivel local contribuirá a detectar posibles fuentes de infección, brotes y a profundizar el conocimiento en diferentes aspectos de la patogenia aún no resueltos. Comparar los aislamientos de mucosas sanas con los de muestras clínicas permitirá corroborar si los *S. zooepidemicus* causantes de enfermedad son las mismas cepas que las obtenidas de animales clínicamente sanos.

Este trabajo fue financiado por el proyecto UBACyT 20020150200205BA.

## MINERALIZACIÓN DE NITRÓGENO ORGÁNICO DE ESTIÉRCOL BOVINO DURANTE 90 DÍAS MEDIDO EN DISTINTOS MOMENTOS

Sassano, N; Carbó, LI; Orlando, AA; Volpe, SM; Herrero, MA

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Bases Agrícolas

El estiércol puede ser utilizado como abono de forrajes, sin embargo algunos aspectos vinculados a la disponibilidad de sus nutrientes para las plantas todavía se desconoce. El objetivo del trabajo fue determinar la mineralización de nitrógeno (N) de estiércol de bovinos lecheros fresco, tras un periodo de 90 días. Se utilizó un diseño factorial ( $n=3$ ) de  $2 \times 5$  con dos tratamientos (Trat): Estiércol (E), un testigo (C) y 5 muestreos (D): D<sub>0</sub>, D<sub>15</sub>, D<sub>30</sub>, D<sub>60</sub> y D<sub>90</sub> (a las 24 horas y a los 15, 30, 60 y 90 días, respectivamente). Para ello se obtuvo estiércol fresco de bovino lechero de tambos de base pastoril con suplementación, que se homogeneizaron, analizaron y secaron en estufa a 20°C a peso constante. El suelo, Argiudol, se secó al aire, tamizó e incubó, para luego enjuagar lo mineralizado, se secó y pesó para armar las bandejas de mineralización. Para ello, se dispuso dos capas de suelo (S) de 50g cada una, con una bolsa de mineralización (BM) entre ellas, con 25 g de estiércol (E) o suelo (C), según el caso. Las bandejas se ubicaron al azar y rotaron tras los riegos, se conservaron en capacidad de campo, a oscuras, bajo condiciones controladas de temperatura y humedad. Se determinó %MS, nitrógeno total Kjeldahl (%N), amonio (NH<sub>4</sub>, mg/kg), en S. Se calcularon los valores de N% y N-NH<sub>4</sub> mg. Se restó el N-NH<sub>4</sub> (como %) al N%, para obtener el N orgánico no mineralizado % (N<sub>org</sub>%). Los datos se analizaron mediante el ANOVA y se compararon las medias mediante la prueba de Bonferroni ( $p<0,01$ ). No se encontró interacción entre Trat y D para N<sub>org</sub>% en S. Tampoco se detectaron diferencias en S para Trat para esa variable, pero sí para D, pero sólo entre D<sub>0</sub> (N<sub>org</sub>%: 4,40±1,04) y D<sub>90</sub> (N<sub>org</sub>%: 2,67±0,71). Se determinó interacción entre Trat y D para N-NH<sub>4</sub>%, y todos los resultados de E son superiores numéricamente a los de C. Se evidencia un incremento significativo en la concentración de N-NH<sub>4</sub>% en D<sub>15</sub> (0,54±0,01) del E, pero no hay diferencias significativas en su concentración en los últimos muestreos (D<sub>30</sub>, D<sub>60</sub> y D<sub>90</sub>). Si bien hay cambios en la distribución numérica de los D entre los distintos Trat, no se encontraron diferencias significativas entre D en C, esto podría mostrar que en otros ensayos, esta interacción podría no estar presente. Estos resultados preliminares muestran que habría fuerte pico de N-NH<sub>4</sub>, indicando el principio de la mineralización en el D<sub>15</sub>. Deberán contrastarse estos resultados con los resultados correspondientes a las BM para constatar los resultados obtenidos hasta el momento.

## **PRIMER AISLAMIENTO Y TIPIFICACIÓN DE *MYCOBACTERIUM BOVIS* EN UN LEOPARDO DE LAS NIEVES (*PANTHERA UNCIA*)**

Sbriller, N<sup>1</sup>; Torres Bianchini, L<sup>1</sup>; Sampietro, L<sup>1</sup>; Pérez, M<sup>1</sup>; Bravo, G<sup>1</sup>; Wiemeyer, G<sup>1</sup>; Minatel, L<sup>3</sup>; Barandiaran, S<sup>2</sup>; Zumárraga, M<sup>4</sup>; Martínez Vivot, M<sup>2</sup>

1-Jardín Zoológico de la Ciudad de Buenos Aires SA. 2-Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Enfermedades Infecciosas. 3-Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Patología Animal. 4- Instituto de Biotecnología, INTA, Hurlingham, Argentina.

La tuberculosis es una enfermedad infecciosa crónica producida por bacterias del género *Mycobacterium* que afecta tanto a humanos como a animales (domésticos y silvestres). Los agentes etiológicos más importantes por su impacto negativo en la salud humana y animal son *Mycobacterium tuberculosis* y *Mycobacterium bovis*, ambos integran el complejo *Mycobacterium tuberculosis*. Si bien faltan estudios acerca de la prevalencia de esta enfermedad en felinos silvestres, hay numerosos reportes de la misma en individuos mantenidos en ambientes controlados (reservas, bioparques, zoológicos, etc.). El objetivo de este trabajo es reportar el primer caso confirmado en Argentina, de tuberculosis bovina en un Leopardo de las Nieves (*Panthera uncia*), de 11 años de edad. En septiembre de 2013 se realizó la necropsia de un ejemplar fallecido luego de un cuadro de disnea recurrente de 8 meses de evolución, con respuesta parcial al tratamiento médico. La histopatología reveló una neumonía piogranulomatosa multifocal, severa, crónica, con necrosis asociada y numerosos bacilos ácido alcohol resistentes (AAR). Se observaron focos de necrosis en hígado y linfonódulos mesentéricos. Tanto en estos órganos como en el bazo también se identificaron bacilos ácido-alcohol resistentes. Las muestras fueron decontaminadas por el método de Petroff y cultivadas en los medios de Stonebrink y Löwenstein-Jensen, e incubadas a 37°C durante 60 días. Los aislamientos fueron identificados y tipificados mediante técnicas moleculares. Por la técnica de PCR, se identificó la secuencia de inserción IS6110 específica del complejo *Mycobacterium tuberculosis*. Para la tipificación del complejo como así también para su diferenciación intraespecie, se utilizó la técnica de hibridación reversa de Spoligotyping, identificando *M. bovis* con un patrón S35 encontrado en muy baja frecuencia en la Argentina. El hallazgo de bradizoitos compatibles con *Toxoplasma gondii* en neumocitos y macrófagos pulmonares sugirió un cuadro concomitante de toxoplasmosis. Considerando que la tuberculosis es una enfermedad crónico-consuntiva habitualmente asociada a otras patologías, no puede cuantificarse la relevancia de *M. bovis* como causal de muerte. Si bien no puede confirmarse la vía de exposición al agente para este caso, la más común en carnívoros es la vía digestiva, al alimentarse de vísceras crudas contaminadas. Para animales alojados en ambientes controlados, aunque la alimentación provenga de frigoríficos con estrictos controles oficiales, las vísceras pueden estar contaminadas con el agente sin presentar lesiones macroscópicas y pasar inadvertidas a la inspección veterinaria. En base a esto se plantea la dificultad de certificar la sanidad de los alimentos para carnívoros silvestres en condiciones controladas a partir de los métodos actualmente implementados para el control y la erradicación de la enfermedad en los rodeos bovinos en nuestro país.

## RESPUESTA INMUNOLÓGICA EN PORCINOS EXPERIMENTALMENTE INFECTADOS CON *T. CATI*. CINÉTICA DE LA INMUNOGLOBULINA M

Sierra, MF<sup>1</sup>; Sosa, S<sup>2</sup>; Ricoy, G<sup>2</sup>; Santillán, G<sup>2</sup>; Kunic, JM<sup>1</sup>; Mundo, S<sup>3</sup>; Sommerfelt, I<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Salud Pública. Buenos Aires, Argentina.

<sup>2</sup> Departamento de Parasitología, INEI-ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”. Buenos Aires, Argentina.

<sup>3</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Inmunología. Buenos Aires, Argentina.

La toxocariasis humana es producida por el ingreso al organismo de las larvas de los parásitos *Toxocara canis* o *T. cati*. La detección de anticuerpos específicos contra el antígeno “excretor-secretor” de *Toxocara* (TES) mediante la técnica de ELISA se emplea de rutina como diagnóstico serológico en humanos. El porcino puede ser utilizado para estudiar los mecanismos inmunológicos involucrados en la infección por *T. cati* y relacionarlo con la infección humana. El objetivo del estudio es evaluar la cinética de la inmunoglobulina M en la etapa aguda de infección por *T. cati* en porcinos experimentalmente infectados. Se inocularon oralmente 15 porcinos de 40 días de edad de raza Yorkshire con 100.000 huevos infectantes de *T. cati* obtenidos a partir de materia fecal de gatos parasitados naturalmente. Aleatoriamente, se formaron cinco grupos de 3 animales cada uno. Cuatro de ellos recibieron el inóculo y el grupo restante permaneció como control. Se extrajeron 10 ml de sangre para obtener el suero de cada animal desde el día 0 previo a la inoculación y luego semanalmente (día 7, 14, 21 y 28 post infección). La técnica de ELISA para detección de IgM anti TES de *T. cati* se realizó siguiendo el protocolo empleado en el Departamento de Parasitología del Instituto ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán” con modificaciones. Los resultados se expresaron como porcentaje de positividad. Se seleccionó el punto de corte mediante análisis de curvas ROC. El análisis estadístico del comportamiento de la IgM en los distintos tiempos se evaluó por ANOVA con comparación de a pares por Bonferroni. Se consideró una significancia estadística de  $p < 0,05$ . El punto de corte elegido fue  $> 57,95\%$  para una sensibilidad de  $93,33\%$  (IC: 77,9-99,2) y especificidad de  $92,86\%$  (IC: 66,1-99,8). Las medias del porcentaje de positividad de IgM a los distintos tiempos fueron: día 0,  $39,79\%$ ; día 7,  $66,3\%$ ; día 14,  $102,18\%$ ; día 21,  $94,45\%$ ; día 28,  $112,1\%$ . Se detectaron diferencias significativas en el comportamiento de la inmunoglobulina M a lo largo del tiempo ( $F=45,33$ ;  $p < 0,0001$ ), con un aumento significativo en los días 0 a 7 p.i. y 7 a 14 p.i. Los animales del grupo control se mantuvieron por debajo de la línea de corte durante toda la experiencia. La infección experimental con el parásito *T. cati* provocó una respuesta inmunológica en los porcinos. El nivel de IgM específica contra el antígeno TES del parásito ascendió a partir del día 7 p.i. mostrando valores por encima de la línea de corte y mantuvo un ascenso gradual hasta el final de la experiencia. La respuesta temprana a la infección así como el comportamiento cinético de la inmunoglobulina M son coincidentes con lo reportado en otras especies.

## FARMACOCINÉTICA PLASMÁTICA DE CLINDAMICINA TRAS SU ADMINISTRACIÓN ORAL Y ENDOVENOSA EN CANINOS

Stranges, A; Passini, S; Lupi, M; Montoya, L; Albarelos, G

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Farmacología

La clindamicina es un antibiótico perteneciente a grupo de las lincosamidas, cuyo mecanismo de acción es inhibir la síntesis de proteínas bacterianas al unirse a una sección de la fracción 50S del ribosoma. Su espectro abarca cocos y bacilos gram-positivos, anaerobios (a excepción de *C. difficile*) y tiene una importante acción contra *Toxoplasma Gondii*. La CIM de los microorganismos sensibles es  $<0,5$  ug/ml. Es un antibiótico de eficacia “tiempo – dependiente” (la concentración de antibiótico debe permanecer por un tiempo determinado por encima de la CIM), siendo el predictor de eficacia clínica para este antibiótico:  $T > CIM = 40-60\%$ . Clindamicina es muy liposoluble, puede administrarse por vía oral o parenteral, con buena penetración en los distintos tejidos y con escasa toxicidad (puede causar trastornos digestivos). La absorción por vía oral se considera que es buena pero variable entre las distintas especies animales. El objetivo del presente estudio fue determinar y comparar el perfil farmacocinético plasmático de clindamicina luego de su administración por vía oral y endovenosa a caninos. Se utilizaron 6 perros de raza Beagle (4 machos y 2 hembras) clínicamente sanos, a los que se les administró por vía endovenosa (10 mg/kg, clindamicina en solución inyectable, 600mg/4ml, Gobbi Novag S.A) y por vía oral (100 mg totales, comprimidos, Clindex 400mg® Bio-Amer). Se obtuvieron muestras sanguíneas seriadas entre los 5 minutos y 24 horas post-administración. Posteriormente se separó el plasma por centrifugación y se conservó a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su procesamiento). Las concentraciones plasmáticas se determinaron por el método microbiológico utilizando *Kokuria rhizophila* ATCC 9341 y se calcularon los principales parámetros farmacocinéticos mediante un programa computarizado (WinNonlin 6.3). Los parámetros farmacocinéticos entre las dos vías de administración se analizaron estadísticamente (test de t para datos pareados,  $P < 0,05$ ) (GraphPad Prism 5.0). Los principales parámetros farmacocinéticos obtenidos para la vía endovenosa fueron (media $\pm$ DE): AUC (ug/h/ml)  $44,50 \pm 9,18$ ; vida media (h):  $3,48 \pm 0,66$ . Los parámetros farmacocinéticos obtenidos para la vía oral fueron: AUC (ug/h/ml):  $21,39 \pm 3,96$ ; vida media (h):  $2,91 \pm 0,54$ ; biodisponibilidad (%):  $49,67 \pm 12,51$ ; Tmax (h):  $1,17 \pm 0,42$ , Cmax (ug/ml):  $3,90 \pm 0,94$ . No se observaron diferencias significativas entre ambas vías de administración. Con las dosis empleadas, las concentraciones de clindamicina se mantuvieron por sobre la CIM=0.5 ug/ml durante 10 horas para la vía oral y durante 12 para la vía endovenosa. Por lo tanto, según los resultados obtenidos con las dosis utilizadas, clindamicina se puede administrar por vía oral o intravenosa cada 24 h en perros con eficacia terapéutica equivalente para ambas vías.

## **RESPUESTA DE LAS COMUNIDADES MICROBIANAS DEL SUELO A UN MANEJO CONSERVACIONISTA DEL CULTIVO DE CAÑA: IMPLEMENTACIÓN DE UN SISTEMA DE LABRANZA EN FRANJAS**

Tarche, JE<sup>1</sup>; Vogrig, JA<sup>1,2</sup>; Tosi, M<sup>1</sup>; Correa, OS<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Agronomía. Departamento de Biología Aplicada y Alimentos. Cátedra Microbiología Agrícola <sup>2</sup> INBA, UBA, CONICET, FAUBA. Buenos Aires, Argentina. tarche@agro.uba.ar

La caña de azúcar constituye el cultivo sacarífero más importante del mundo, responsable del 70% de la producción total de azúcar. Para la provincia de Tucumán, dicha actividad es la más importante para su economía. El manejo convencional del cultivo conlleva un uso intensivo de maquinarias que altera progresivamente la fertilidad del suelo, en especial sus propiedades físicas. En respuesta a esta problemática, el Laboratorio de Terramecánica e Implantación de Cultivos del INTA desarrolló una tecnología de labranza en franjas (LF) para reducir el nivel de disturbio sobre el suelo. Con el objetivo de comparar el efecto de la LF con la labranza convencional (LC), se estudió el impacto de ambos manejos sobre aspectos de las comunidades microbianas del suelo (CMS), así como también su variabilidad en profundidad (0-10, 10-20 y 20-30 cm). Las CMS podrían resultar útiles como indicadores de la calidad del suelo debido a que responden sensiblemente a cambios en su hábitat y a que poseen un rol clave en los ciclos biogeoquímicos y el funcionamiento del suelo. El ensayo se llevó a cabo en la E.E.A. Famaillá, Tucumán, en 2 años de muestreo (2014 y 2016). Las variables que se determinaron fueron: carbono de la biomasa microbiana (CBm), respiración del suelo (RS) y actividad deshidrogenasa (ADH), y se calculó el cociente metabólico ( $qCO_2$ ). Se observó que los tratamientos con LC y testigos presentaron mayor CBm a 0-10 cm de profundidad ( $p < 0,05$ ) en comparación a LF. Sin embargo, las CMS del tratamiento en LF no mostró diferencias significativas contra la LC en cuanto a RS. A su vez, los testigos en el primer estrato de profundidad mostraron mayor RS ( $p < 0,05$ ) que ambos tratamientos de labranza, lo cual significa que el metabolismo de esas comunidades es más eficiente. El  $qCO_2$  no mostró diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) entre tratamientos, así como tampoco a distintas profundidades. No obstante, en la tendencia observada, todos los tratamientos en el año 2016 a 0-10 cm de profundidad presentaron un mayor cociente, lo que significa que las CMS destinan mayores recursos al mantenimiento que a la generación de biomasa. Esta respuesta puede deberse a que dicho año fue significativamente más seco que el 2014, resultando en condiciones de estrés para las CMS. La ADH mostró interacción profundidad\*año ( $p < 0,01$ ), siendo la actividad intracelular significativamente mayor en el año 2014 a 0-10 y 10-20 cm de profundidad. Dicha respuesta se correlaciona con el  $qCO_2$  mostrando una menor actividad microbiana, posiblemente a causa del déficit hídrico del año 2016. Ninguna de las variables presentó diferencias significativas en los estratos de 10-20 cm y 20-30 cm de profundidad (a excepción de la ADH) pudiendo deberse dicha respuesta a la remoción del mismo en los tratamientos de labranza. Si bien hasta la fecha no hubo variación significativa entre tratamientos, se sugiere continuar con el estudio, dado que el ensayo lleva 3 años desde la implantación del cultivo, no cumpliendo aún con el ciclo de la caña el cual varía de 5 a 7 años.



## EFFECTO DEL COCULTIVO DE CÉLULAS LUTEALES PORCINAS Y DEL MEDIO DE CULTIVO CONDICIONADO SOBRE LA MADURACIÓN NUCLEAR *IN VITRO*

Teplitz, GM; Lorenzo, MS; Cruzans, PR; Maruri, A; Lombardo, DM

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Instituto de Investigación y Tecnología en reproducción Animal (INITRA). Cátedra de Histología y Embriología. Buenos Aires, Argentina. e-mail: [gnteplitz@gmail.com](mailto:gnteplitz@gmail.com).

La producción *in vitro* de embriones porcinos es una biotecnología poco eficiente. La maduración nuclear y citoplasmática no han sido bien descritas en esta especie, y esto se ve reflejado en inconvenientes para la formación de los pronúcleos y la existencia de altos porcentajes de polispermia. La utilización de un cocultivo estandarizado recrearía de mejor forma el ambiente en el cual se desarrollan estos procesos *in vivo*. La elección de células luteales porcinas (CLP) en monocapa para el cocultivo de complejos *cumulus* ovocito (COC), se fundamenta en la producción basal de progesterona (P4), hormona que posee un efecto antiapoptótico y es un mediador en la cascada de la reanudación meiótica. La utilización del medio de cultivo condicionado (MC) por células luteales porcinas se fundamenta en su constitución de componentes biológicamente activos y sintetizados por las células cultivadas. El objetivo de este trabajo fue comparar el efecto del cocultivo con CLP y MC sobre la maduración nuclear de ovocitos porcinos. Para la obtención del cultivo de CLP y de COC se utilizaron ovarios provenientes de faena. Los COC se obtuvieron por punción - aspiración folicular y luego se maduraron *in vitro* durante 44 h. La maduración *in vitro* (MIV) se realizó en gotas de 100  $\mu$ L usando en todos los casos como medio base el TCM 199 suplementado con fluido folicular porcino y antibióticos. Los grupos experimentales fueron: control sin hormonas (C-hMG), control con hormonas (C+hMG), cocultivo con CLP pasaje 1 (CLP-1) y MC. Las CLP-1 se sembraron en una concentración de  $2 \times 10^4$  cél/mL 24 h previas a la MIV y el MC empleado correspondió a este cultivo. Se evaluaron los porcentajes de maduración nuclear mediante la tinción con Hoechst 33342 (visualizando la placa metafásica) y se consideró significativo un  $p < 0,05$ . Se observó una diferencia significativa entre el cocultivo y el MC (cocultivo: 72%, n= 104 y MC: 59%, n= 95). No se observaron diferencias significativas entre el cocultivo y C+hMG (79,5%, n= 75) y entre MC y C-hMG (47%, n= 95). En base a lo observado, se concluye que la maduración nuclear en cocultivo con CLP-1 es similar a la maduración nuclear con el agregado de hormonas. Y que, la maduración nuclear con MC es similar a la maduración nuclear sin el agregado de hormonas. El uso de MC no ejerce el mismo efecto que el cocultivo, pudiendo suponer (sin descartar la existencia de factores solubles que pueden estar inactivados en el caso del MC), que el contacto directo entre CLP-1 con los COC o la señalización parácrina que se genera podría estar relacionada con el efecto observado. La utilización de este sistema de cocultivo, y no de su MC, permitiría reemplazar el agregado de hormonas a los medios de MIV manteniendo los porcentajes de maduración nuclear.

## TEST DE CAPACIDAD PARA DOS ANTISÉPTICOS: DESAFÍO CON ESTAFILOCOCOS PRODUCTORES DE MASTITIS BOVINA

Testorelli, MF<sup>1</sup>; Gentilini, ER<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de microbiología. Proyecto UBACyT BA313

Las pruebas de capacidad de antisépticos, cuyo prototipo es la prueba de Kelsey- Sykes, proporcionan información sobre la capacidad de una solución antiséptica para ser expuesta a microorganismos sin perder su actividad. Esta prueba permite simular las condiciones de uso y tiene significancia en casos de utilización repetida de productos, como los selladores de pezones para prevención de mastitis. En este trabajo se evaluó la capacidad de tres concentraciones de antisépticos desafiados con cepas de campo obtenidas de casos de mastitis bovina. Se utilizaron n= 40 cepas de estafilococos y *S. aureus* ATCC 6538, como cepa de referencia. Se preparó un inóculo de las bacterias a testear con una turbidez correspondiente al 0,5 de Mac Farland ( $1-2 \times 10^8$  UFC/ml CLSI). Como diluyente de los antisépticos se utilizó agua destilada estéril y se desafió la capacidad del digluconato de clorhexidina (DC) al 20% (presentación comercial), al 2% (1/10) y al 0,2% (1/100); y la de yodopovidona (Y) al 10%, al 1% (1/10) y al 0,1% (1/100). Para neutralizar la inhibición, se utilizó: tiosulfato de sodio 0,05% (Merck) y Tween 80® 2% (Sigma-Aldrich). Acorde a la técnica, en tres tiempos se adicionó 1ml de suspensión bacteriana a cada dilución. Luego de cada intervalo se tomó una alícuota de cada mezcla y se colocaron 5 gotas de cada una en un medio nutritivo con el neutralizador correspondiente. Las placas se incubaron 48hs a 37° C. Se estableció como concentración bactericida eficaz a aquella que permitió el desarrollo de no más de 5 UFC/placa después de la segunda inoculación. Los resultados obtenidos indicaron que la cepa de referencia fue inhibida eficazmente por todas las concentraciones de ambos agentes, excepto DC al 1% que no inhibió su desarrollo. Para el resto de las cepas se observó un 100% de inhibición por parte de las concentraciones comerciales y las diluciones 1/10 para ambos biocidas. La dilución 1/100 arrojó inhibición del 40 % de las cepas en el caso del DC y del 80 % en el caso de Y. De acuerdo a los resultados obtenidos, de ambos antisépticos el yodado demostró ser capaz de eliminar mayor cantidad de microorganismos a un mismo nivel de dilución que el DC. En los tambos de Argentina, los productos yodados son los más utilizados para el sellado de pezones. Estos varían en la cantidad de yodo disponible y libre en las formulaciones y están acompañados de otros componentes químicos. La higiene y el control periódico de los depósitos y dispensadores de selladores están recomendados como parte de una rutina estricta de manejo en el tambo. Estas y otras medidas de control podrían evitar posibles diluciones o contaminaciones que alteren la eficacia de los mismos. La vigilancia a través de estudios *in vitro* resulta una herramienta valiosa para el manejo y control de la mastitis.

## EFFECTOS DE HIFOMICETES DEMATIÁCEOS SOBRE EL PROCESO DE FITORREMEDIACIÓN EN SUELOS CON ALTO CONTENIDO DE HIDROCARBUROS

Ureta Suelgaray, FJ<sup>2</sup>; Fernandez di Pardo, A; Lavado, RS<sup>1</sup>; Chiocchio, VM<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>INBA, UBA, CONICET, <sup>2</sup>FAUBA - Universidad de Buenos Aires. Facultad de Agronomía. Departamento de Biología Aplicada y Alimentos. Cátedra Microbiología Agrícola. Buenos Aires, Argentina.

[ureta@agro.uba.ar](mailto:ureta@agro.uba.ar)

Como respuesta al impacto negativo generado por la contaminación con hidrocarburos se han implementado sistemas biológicos de remediación con el propósito de limpiar y recuperar las áreas impactadas. Entre estos sistemas se destacan las técnicas de biorremediación y la fitorremediación. En este trabajo se propuso aislar hongos dematiáceos de un suelo rizosférico contaminado con hidrocarburos en una Destilería de Campana (Pcia de Bs. As.) y evaluar en pruebas *in vitro*, su comportamiento frente a distintas concentraciones del mismo. Por otra parte, se evaluó en un ensayo en macetas el rol de estos hongos en el proceso de fitorremediación realizado por dos especies forrajeras, *Dactylis glomerata* L. y *Festuca arundinacea* Schreb. Se evaluó el crecimiento de las cepas dematiáceas aisladas en medio de cultivo sólido (Medio mineral mínimo) con cinco concentraciones de kerosene (1, 3, 4, 5 y 10%), siendo este compuesto la única fuente de carbono. Para evaluar el efecto fitorremediador de las dos forrajeras se realizó un ensayo en invernáculo utilizando macetas con una mezcla suelo/vermiculita (1:2) al 1% de kerosene inoculando las mismas con las distintas cepas fúngicas. Se midió la altura y se determinó la biomasa aérea y radical. Las 3 cepas de hifomicetes dematiáceos aisladas fueron caracterizadas como tres morfotipos diferentes. Dos cepas mostraron tolerancia al kerosene hasta una concentración del 5%. Se observó una inducción en el crecimiento del morfotipo I y III en las concentraciones intermedias (3, 4 y 5%). El morfotipo I (cepa 2-2-18) no mostró una relación directa entre las concentraciones de kerosene y la tasa de crecimiento. El morfotipo III (cepa 4-2-10), en cambio, presentó una disminución en la tasa de crecimiento con el aumento de la concentración de kerosene en el medio de cultivo. Las dos especies vegetales tuvieron una tolerancia similar frente al kerosene. La presencia de hifomicetes dematiáceos no afectó el proceso de fitorremediación, dado que no se observaron diferencias significativas en los parámetros medidos. La altura de la parte aérea no resultó afectada mientras que la biomasa radical y aérea fueron afectadas negativamente por la presencia del hidrocarburo, aunque no en forma significativa en comparación con los controles.

Financiamiento Proyecto UBACYT 2014-2017 GC

El presente trabajo forma parte de la tesis de grado del primer autor

## EFFECTOS DE LA ATRAZINA EN LA SOBREVIVENCIA Y MORFOLOGÍA DE *ARTEMIA SALINA* (ESTADIO NAUPLII)

Vazquez, M<sup>a</sup>; Vazquez, FJ<sup>a,b,c\*</sup>; Fernández Cirelli, A<sup>a, b, c</sup>

<sup>a</sup> Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra Química Orgánica de Biomoléculas. Buenos Aires, Argentina. <sup>b</sup> Universidad de Buenos Aires. Centro de Estudios Transdisciplinarios del Agua (CETA). Buenos Aires, Argentina. <sup>c</sup> CONICET - Universidad de Buenos Aires. Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA). Buenos Aires, Argentina. fvazquez@fvet.uba.ar\*

La atrazina es uno de los herbicidas de amplio espectro comúnmente utilizado en agricultura. Presenta alta movilidad en agua, siendo uno de los más peligrosos, dado que se acumula en ambientes acuáticos, provocando daños ambientales significativos. Su uso fue prohibido en la Unión Europea en el año 2004, cuando se detectaron niveles en agua subterránea que excedían los límites establecidos por los organismos reguladores; sin embargo aún continúa siendo utilizado en muchos países, incluidos los grandes productores de granos como Estados Unidos, Argentina y Brasil. Por tal motivo, resulta importante que haya un control sobre el uso/aplicación de dicho plaguicida. En las evaluaciones de ecotoxicidad, los crustáceos acuáticos, y en particular, sus estadios embrionarios, larvales y post-larvales son utilizados extensamente en bioensayos de toxicidad de metales pesados y pesticidas, mostrando una particular sensibilidad. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de toxicidad de la atrazina en la morfología, sobrevivencia y dinámica natatoria de larvas de *Artemia salina* (estadio *nauplii*). Para ello se colocaron 0.2 g de quistes en 500 ml de solución salina 30 g L<sup>-1</sup>, pH 7.8 y temperatura de 25° ± 1°C, manteniéndose con aireación y luz constante por 24 h hasta su eclosión. Las larvas *nauplii* eclosionadas, se colocaron en vasos de precipitados conteniendo atrazina en diferentes concentraciones (0.5ppm, 1ppm, 2ppm, 3ppm y 5ppm) y se mantuvieron expuestas durante 72h en condiciones controladas de temperatura y con un fotoperiodo 12:12 (horas luz:oscuridad). Cada 24h se observaron bajo lupa de forma detenida y se calcularon los porcentajes de viabilidad/mortalidad. Los resultados obtenidos a partir de dicho ensayo, indicaron que las larvas expuestas a concentraciones superiores a 3 ppm de atrazina presentaron aspecto “globoso”, con sus apéndices natatorios menos desarrollados, los cuales interfirieron en la actividad natatoria, como así también una coloración más amarillada. Con respecto a la mortalidad, se pudo observar que la atrazina mostró toxicidad a concentraciones del orden de 0,5ppm en todos los tiempos de exposición, donde a partir de las 48hs se observa que más del 70% de las larvas expuestas murieron. La mortalidad de las larvas expuestas a todas las concentraciones fue similar. Esto resulta interesante ya que se esperaría que las larvas expuestas a altas concentraciones murieran antes de las 48hs, sin embargo esto no ocurrió. Por lo tanto, resulta inquietante, ya que los organismos que sobreviven podrían generar “resistencia” para adaptarse frente a algún tipo de contaminante y/o acumularlo. Con respecto al aspecto globoso observado, podría deberse a un desbalance osmótico, provocado por el efecto del plaguicida. Este tipo de estudio resulta de utilidad, para el monitoreo de los efectos de los contaminantes sobre la biodiversidad acuática y el control de los recursos acuáticos; a su vez colaboran en la búsqueda de los organismos adecuados para ser empleados como bioindicadores de toxicidad de pesticidas en ecosistemas acuáticos.

## DENSITY AS A GROWTH MODULATOR IN THE CULTURE OF THE ORNAMENTAL CARIDEAN SHRIMP *NEOCARIDINA DAVIDI* (RED CHERRY)

Vazquez, ND<sup>1</sup>; Colpo, K<sup>2</sup>; Sganga, D<sup>1</sup>; López Greco, L<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidad de Buenos Aires. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Instituto de Biodiversidad y Biología Experimental y Aplicada (IBBEA, CONICET-UBA). Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. DBBE. Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup> ILPLA-CONICET.

Ornamental organisms support a multi-million dollar global industry being decapod crustaceans such as shrimps, crayfish and crabs relatively new to the pet trade. *Neocaridina davidi* is a freshwater shrimp species native to Asia with an average length of 2-2.5 cm. Its sexual dimorphism is evident, females are larger than males and more profusely pigmented defining the ornamental quality. Regardless of its popularity, basic knowledge of *N. davidi* biology, such as optimal rearing conditions, is lacking. In the present study the effect of density on growth, survival and biochemical composition of the red cherry shrimp was studied to determine optimum rearing conditions. Newly hatched juveniles were reared at three different densities: 2.5, 5 and 10 shrimp.L<sup>-1</sup> (D2.5, D5 and D10 respectively). Growth period lasted for 90 days and shrimps were weighed every 30 days. At day 90, all shrimps were sexually mature, so they were weighed and their biochemical composition (total glycogen, lipids and proteins content) was analyzed separately males from females. Females at D2.5 weighed 45% more than females stocked at D10, whereas females at D5 did not differ from those at other densities. Males at D2.5 weighted 29% more than those at D5 and D10. Survival was high (nearly 90%) and unaffected by treatment. Regarding the biochemical composition females at D2.5 had the lower lipid and protein content, probably due to a higher reproductive frequency. Males at D2.5 had higher content of proteins, probably due to their greater size. In summary, increasing the stocking density showed a negative effect over *N. davidi* growth rate although survival rate remained unaffected. Therefore, it is recommended that shrimp should be stocked at a density of 2.5 shrimp.L<sup>-1</sup> to obtain larger females and males. Culture density also models the species biochemical composition.

Financial support: CONICET (PIP 2015-2017 project 11220150100544) y UBACYT (2014-2017 project 20020130100186BA)

## **RESPUESTA MEDULAR A LA APLICACIÓN DE POLIETILENGLICOL LUEGO DEL TRAUMA MEDULAR AGUDO EXPERIMENTAL EN LA RATA**

Vega, M; Blanco, C; Ferraro, J; Martín, E; Sánchez, G; Vidal Figueredo, R; Pellegrino, F

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Anatomía. Buenos Aires, Argentina. [marianela.vega@hotmail.com](mailto:marianela.vega@hotmail.com)

El objetivo de este trabajo es analizar los cambios morfológicos y funcionales del trauma medular agudo (TMA) y los efectos terapéuticos del tratamiento, con polietilenglicol 400 (PEG) en lesiones de la médula espinal inducida experimentalmente en ratas. Las ratas se sometieron a una laminectomía a nivel de T9-T10, y una vez expuesta la duramadre, se utilizó un peso en caída libre sobre la misma para la producción de TMA. Los animales fueron aleatoriamente asignados a cuatro grupos: control, lesionado, propilenglicol y PEG. Al grupo “control”, se le realizó la laminectomía, se irrigó la zona con solución de Krebs y se procedió al cierre quirúrgico. Al grupo “lesionado” se les produjo el TMA y se cerró la incisión. Para los grupos “propilenglicol” y “PEG” luego del TMA se irrigó la zona con una solución 50% en agua destilada de propilenglicol o de PEG<sub>400</sub>. Se realizó la prueba de campo abierto para evaluar y calificar el grado de discapacidad motora y sensibilidad de los animales. Al día siguiente de la cirugía los animales fueron asignados de manera aleatoria a los grupos que serían evaluados neurológica e histológicamente, a las 12, 24 y 48 horas. Luego, se realizó la eutanasia y se tomaron muestras para las preparaciones histológicas. Los resultados de la prueba de campo abierto, el grupo “control” mostró movimientos normales; en el grupo “lesionado” y “propilenglicol” se observó una severa deficiencia en la actividad locomotora y movimientos circulares erráticos. El grupo “PEG” presentó una pérdida menor de la motricidad y una mejora a las 48 hs. Al examen neurológico, durante las primeras 12 horas, la totalidad de los animales presentaban una ausencia parcial/total de movimientos en los miembros pelvianos, paraplejía flácida de los miembros pelvianos, ausencia de movimiento en la cola y de sensibilidad superficial. A las 24 horas los grupos tratados mostraron una leve mejoría, pero a las 48 horas el grupo “PEG” mostró un aumento significativo en los resultados de la evaluación neurológica. En los resultados histológicos, en el grupo “lesionado” se pudo observar la presencia de áreas con desorganización de la sustancia blanca en los cordones dorsales. En algunos casos se observaron modificaciones en la mielina de los axones del cordón dorsal que caracterizan la fase secundaria de la lesión medular. En el grupo “PEG” se observó una reducción del grado de respuesta tisular, sin signos de edema ni lesiones quísticas. Los cambios inmediatos al TMA (desprendimiento de la piamadre y pérdida de la función) se presentaron en todos los grupos. Sin embargo, los signos clínicos fueron revertidos en los animales del grupo “PEG”, pero no en aquellos del grupo “propilenglicol”. Los datos obtenidos nos permiten pensar que el efecto protector de la función espinal es propio del PEG y es inherente a su capacidad fusógena sobre las membranas celulares lesionadas. Dicho efecto se evidenció claramente en la respuesta clínica neurológica de los animales lesionados. Nos queda continuar evaluando los cambios morfológicos que se producen en los animales lesionados.

## DETECCIÓN DE GENES DE INVASIÓN Y VIRULENCIA EN *CAMPYLOBACTER JEJUNI* Y *CAMPYLOBACTER COLI* AISLADOS DE POLLOS DE GRANJAS INDUSTRIALES Y FAMILIARES

Velilla<sup>1</sup>, AV; Méndez<sup>1</sup> MA; Terzolo<sup>1</sup> HR

<sup>1</sup>-Laboratorio de Bacteriología, Área de Producción Animal, INTA EEA-Balcarce. Ruta 226 Km.73.5 CP7620

*Campylobacter jejuni* y *C. coli* son importantes patógenos que causan, principalmente, infecciones alimentarias en seres humanos a través del consumo de carne aviar y sus subproductos. Diferentes cepas de *Campylobacter* termotolerantes pueden poseer diferentes capacidades de invasión y adherencia celular, probablemente atribuidas a la presencia o ausencia de elementos genéticos que participan en la patobiología de esta bacteria. Algunas propiedades de las especies termotolerantes de *Campylobacter*, tales como la habilidad para adherirse y colonizar el tracto entérico, así como la capacidad para invadir enterocitos y la síntesis de una o más toxinas, se consideran esenciales para desencadenar el proceso de infección. Este trabajo fue realizado para determinar la presencia o ausencia de genes asociados con la invasión, adhesión y colonización de *C. jejuni* y *C. coli*. Se seleccionaron 58 cepas que fueron aisladas de muestras de Buenos Aires, Entre Ríos y Córdoba; de éstas, 11 fueron identificadas como *C. jejuni* y 47 como *C. coli*. Trece cepas fueron aisladas de ciegos de pollos camperos de granjas familiares y 45 de hígados y contenido cecal de pollos de engorde procedentes de granjas industriales. Mediante PCR se analizó la presencia o ausencia de los genes *iam*, *cadF*, *cdtA*, *cdtB*, *cdtC* y *flaA*. El ADN molde de cada cepa se extrajo mediante un kit comercial para la purificación del ADN. Los productos amplificados se sembraron en geles de agarosa al 1% para su visualización. En todas las cepas estudiadas se detectaron los genes *cadF* y *cdtB*; el gen *iam*, se detectó en 55 cepas (94,8%); el gen *cdtA* en 56 cepas (96,5%); el gen *cdtC* en 55 cepas (94,8%); y el gen *flaA* en 53 cepas (91,3%). Como todas las cepas analizadas portaron el gen *cadF* podría considerarse que todas las cepas estudiadas aquí son capaces de colonizar el intestino de las aves, puesto que previamente se ha demostrado que las cepas carentes del gen *cadF* son incapaces de colonizar el tracto entérico de las aves de corral. El marcador *iam* se ha asociado con la capacidad de invasión de estos *Campylobacter* termotolerantes en aves de corral y su presencia se ha asociado con la severidad de la enteritis producida. Estudios previos sobre la presencia y distribución individual de los genes *cdtA*, *cdtB* y *cdtC* o bien del cluster *cdt* indican que su prevalencia en aislamientos de aves de corral y en otras especies de aves excede un 90%, datos que concuerdan con los resultados presentados en este trabajo. No se encontraron diferencias entre la distribución de los genes procedentes de las cepas aisladas de granjas industriales o familiares. Para comprobar el rol preciso de estos factores genéticos, y su posible asociación con el grado de patogenicidad o virulencia de los *Campylobacter* termotolerantes en pollos, se requiere evaluar la patogenicidad de algunas de estas cepas en modelos apropiados de reproducción experimental en pollos.

## **TASA DE FILTRADO GLOMERULAR y TIEMPO DE REACTIVIDAD, DOS VARIABLES AFECTADAS EN EL PERRO CON SÍNDROME DE CUSHING**

Vidal, P<sup>1-2</sup>; Miceli, D<sup>1-2</sup>; Castillo, V<sup>1</sup>.

1-Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cat.Clin.Med.Peq.An. y U. Endocrinología; H.Esc. Av. Chorroarín 280,(1427)CABA-Arg. 2-CONICET.  
Proyecto de investigación clínica UBACYT: 20720130100004BA

El Síndrome de Cushing (SC), endocrinopatía frecuente del perro, cursa con hipertensión arterial y daño renal. El riñón es altamente sensible a la hipertensión, siendo esta uno de los factores de riesgo que generan daño glomerular. En el presente trabajo se evaluó la presencia de daño renal en pacientes con SC a través de parámetros que determinan funcionalidad renal como la tasa de filtración glomerular (GFR) y el tiempo de reactividad (RT). Se estudiaron 20 perros con SC. Ninguno presentaba enfermedades concurrentes que comprometieran la funcionalidad renal. Se midió presión arterial (PA): sistólica (PS) y diastólica (PD) definiéndose como hipertensión a PS>160mmHg y/o PD>90mmHg. Por ecodoppler de arteria renal se evaluó el índice de resistencia (IRA, vn< 0,72). En orina se determinó la relación proteina/creatinina (UPC, vn:< 0,3, inespecífico entre 0,31 y 0,5 y patológico >0,51). Se realizó Centellografía renal para evaluar funcionalidad y se determinó GFR (vn>3ml/kg/min para riñón sano, para insuficiencia renal subclínica entre 1.2 y 2.7 ml/kg/min y azotemia <1.2 ml/kg/min) y el RT (vn es <3.5 minutos, con alteración funcional >5 minutos y sospechoso entre 3.6 y 4.9 minutos). Las variables fueron correlacionadas entre sí por el test de Spearman, método no paramétrico y Test exacto de Fisher para ver asociación entre la PA, UPC y IRA. El 80% (16/20) de los perros presentó hipertensión diastólica. La PS fue elevada en el 60% (12/20) de los animales. Los valores de IRA hallados fueron mayores a 0,72 en el 50% (10/20) de los animales. El UPC fue >0.5 en 55% (11/20) de los perros, en rango inespecífico en el 10% (2/20) y < 0.3 en el 35% (7/20). El 65% presentó proteinuria glomerular (13/20), coincidiendo con aquellos con UPC elevada o inespecífica. El GFR fue entre 1.2 y 2.7 ml/kg/min en el 35% de los perros (7/20). El RT estuvo alterado (>3.5 y <5 minutos) en el 35% de los perros (7/20), coincidiendo con aquellos en que el GFR también lo estaba. El 25% (4/20) presentó disminución de la masa renal coincidiendo con aquellos que tenían afectado el GFR y RT. Según el análisis de las curvas del centellograma, se vieron afectadas las fases de filtración glomerular y de perfusión renal. Correlaciones: PS no presentó correlaciones. La PD correlacionó positivamente con la UPC (r=0.8;P<0.001), habiendo asociación significativa (P<0.05) entre la presencia de proteinuria y la elevación de la PD. Hubo correlación negativa entre PD y GFR (r=-0.58; P=0.007). No se observó correlación entre IRA y UPC (r=0.2; P=0.8), pero sí presentaron asociación estadística (P<0.01). En el 50% de los individuos (10/20) se observó aumento del IRA y de la PD pero sin asociación estadística significativa (P=0.36). El Síndrome de Cushing conduce a la hipertensión diastólica que lleva al daño progresivo del glomérulo, resultando en proteinuria, alteración del IRA, disminución del GFR y aumento del RT, comprometiendo la masa renal. La medición de la PA, junto con el IRA y UPC son indicadores tempranos de daño glomerular y de evaluación accesibles en la clínica diaria.



## DETECCIÓN DE *ESCHERICHIA COLI* ENTEROPATÓGENO EN CANINOS Y FELINOS

Von Wernich Castillo, P; Bentancor, A; Blanco Crivelli, X

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Microbiología. Buenos Aires, Argentina.

*Escherichia coli* es un microorganismo perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae*, cuyo hábitat es el intestino de diferentes especies animales y del hombre. Las cepas diarreogénicas se originan a partir de mecanismos de transferencia horizontal de genes, y se diferencian por sus factores de virulencia. *E. coli* enteropatógeno (EPEC) constituye uno de los patovares con impacto en Salud Pública. Los animales domésticos podrían actuar como un reservorio de este patógeno siendo un eslabón de importancia en su ciclo epidemiológico. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la portación de EPEC en caninos y felinos. Se analizaron muestras provenientes de 194 animales domésticos (caninos y felinos). Se realizó el rastrillaje en los templados obtenidos de hisopados rectales precultivados en caldo tripteína soja (18 h a 37° C) con posterior siembra en agar Mac Conkey (18 h a 37°C). La detección de EPEC en animales *stx1*-/*stx2*- se realizó mediante PCR del gen *eae*+. Además se analizaron las fichas epidemiológicas de los animales muestreados y se estudió la frecuencia de las variables especie (clasificada en canino o felino), grupo etario (clasificada en jóvenes –animales menores a 1 año-, adultos-animales mayores a 1 año y menores a 10 años- y gerontes -animales mayores a 10 años-), y diarrea (clasificada en presencia o ausencia). Los resultados se analizaron mediante el test de diferencias de proporciones. La proporción de muestras de caninos fue 149/194 (38 jóvenes, 73 adultos, 27 gerontes y 11 animales sin registro), la de felinos 42/194 (7 jóvenes, 27 adultos, 5 gerontes y 3 animales sin registro) y 2/194 animales no presentaban datos. Al rastrillaje se detectaron 41/149 caninos y 2/42 felinos *eae*+. Sólo se observó diarrea 7/41 caninos. Se observaron diferencias estadísticas significativas a favor de la detección del gen *eae* en función de la especie canino ( $p < 0,05$ ). El análisis de las muestras estudiadas permite inferir la presencia de cepas EPEC en caninos y felinos de compañía constituyendo un primer acercamiento en la evaluación de su prevalencia. Estos datos permiten considerar a las mascotas como portadores de cepas de impacto en salud. Para determinar el riesgo potencial y el impacto epidemiológico de estos resultados es necesario el aislamiento de las cepas y su caracterización molecular.

## **AISLAMIENTOS DE *STREPTOCOCCUS EQUI* SUBSP *ZOOEPIDEMICUS* DEL APARATO REPRODUCTOR DE YEGUAS SUSCEPTIBLES A ENDOMETRITIS**

Zeni Coronel, M<sup>1</sup>; Retamar, G<sup>1</sup>; Perez, A<sup>1</sup>; Sarcone, N<sup>1</sup>; Castillo, K<sup>1</sup>; Bustos, C<sup>1</sup>; Etchecopaz, A<sup>1</sup>; Baca Castex, C<sup>2</sup>; Alonso, A<sup>2</sup>; Muñoz, A<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, <sup>1</sup>Cátedra de Enfermedades Infecciosas. <sup>2</sup>Cátedra de Teriogenología.

La endometritis es una de las principales causas de infertilidad en la yegua, la cual se traduce en una disminución de los índices de gestación y pérdidas económicas por gastos en tratamientos, pérdida de embriones, repetición de servicios, etc. Dentro de las bacterias oportunistas encontramos con mayor importancia a *Streptococcus equi* subsp *zooepidemicus* (*S. zooepidemicus*) que se encuentra implicado en el 77% de casos de endometritis. Uno de los principales problemas a los que se enfrenta el veterinario son las yeguas subfértiles que presentan endometritis crónicas o recurrentes debido a deficiencias en el *clearence* uterino o problemas de conformación. El objetivo de este trabajo fue aislar *S. zooepidemicus* del aparato reproductivo de yeguas susceptibles a endometritis, y, de todas las muestras de útero, identificar todos los aislamientos bacterianos. Se tomaron muestras de 10 yeguas en estro consideradas como susceptibles a endometritis. Las muestras fueron tomadas de clítoris, fondo de vagina y útero y enviadas al laboratorio en medio Stuart, se sembraron en Agar Sangre, y se incubaron a 37°C con CO<sub>2</sub> por 24-48 hs. Se seleccionaron las colonias productoras de β-hemólisis, la identificación se realizó mediante pruebas bioquímicas, antígeno C de Lancefield y biología molecular. En 5 yeguas se identificaron 11 aislamientos de *S. zooepidemicus*. En 1 yegua se obtuvo un aislamiento de clítoris, en 4 yeguas 5 aislamientos de fondo de vagina y en 2 yeguas 5 aislamientos de útero. Sólo en 1 yegua se aisló este agente de los tres sitios anatómicos y en las dos yeguas que tuvieron cultivo positivo en útero, se aisló este agente también en vagina. En una de las muestras de útero, además de *S. zooepidemicus*, se identificó *Klebsiella spp* y *Micrococcus spp*. En el 50% de las yeguas se aislaron colonias productoras de β-hemólisis. De las muestras positivas, el 40% de las colonias provinieron de útero. El proceso de endometritis está asociado, en muchas ocasiones, con la presencia de microorganismos en el lumen uterino. *S. zooepidemicus* se logró aislar de clítoris en muy baja cantidad y vagina en mayor cantidad. Este microorganismo puede ingresar al útero durante la monta natural o inseminación artificial, después del parto, durante el examen reproductivo o como resultado de la deficiencia de las barreras físicas naturales. También puede permanecer de manera silente en el útero, éstas podrían ser cepas más adaptadas al ambiente uterino, lo que puede generar una deficiencia en la respuesta inmune con acúmulos de líquido en el lumen uterino. Ante la sospecha clínica de endometritis debemos confirmar el diagnóstico mediante la citología uterina y resulta importante realizar cultivos uterinos para conocer el agente etiológico y así instaurar un tratamiento correcto y evitar la resistencia microbiana generada por el mal uso de antibióticos.

Este trabajo fue financiado por el proyecto UBACyT 20020130100299BA.

## **PRESENCIA DE METALES PESADOS EN LAS PLAYAS DE LA FRANJA COSTERA SUR DEL RÍO DE LA PLATA**

Zorzoli, PA<sup>1</sup>; Molina, DA<sup>1</sup>; Llorente, CG<sup>1</sup>; Volpedo, AV<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Hidrografía Naval, Ministerio de Defensa

<sup>2</sup> Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Instituto de Investigación de Producción Animal (INPA-UBA-CONICET).

En la Franja Costera Sur del Río de la Plata se asienta la mayor concentración de habitantes del país (Ciudad Autónoma de Buenos Aires y su conurbano) representando aproximadamente el 40% de la población total del país. Esto conlleva a que las aguas, de esta área, presenten mayor grado de deterioro ambiental debido a las importantes descargas de efluentes industriales y domiciliarios. Dentro de los contaminantes hallados en las aguas del Río de la Plata, se observan los metales pesados (Cd, Cu, Cr y Pb) que presentan una distribución con mayor abundancia sobre la costa. Esto genera una alta probabilidad de precipitación de estos metales en las zonas intermareales (ya sea por adsorción a sedimentos o por interacción con materia orgánica). Estas zonas forman parte de las playas donde una parte de la población del conurbano realiza tareas recreativas, es por esto que resulta indispensable conocer el estado real, en relación a la carga de metales, que presentan los sedimentos intermareales. Para ello se realizaron muestreos anuales entre los años 2008 a 2016 en 14 playas entre San Isidro y Punta indio mediante el método de cuarteo de playas (tomar muestras con extractor de teflón a lo largo y ancho de la playa en puntos equidistantes, para luego unificarlos en una única muestra). A estas muestras se le determinaron por el método de absorción atómica con horno de gráfico (método EPA), previa digestión de las muestras, los metales pesados cadmio (mg/Kg), cobre (mg/Kg), cromo (mg/Kg) y plomo (mg/Kg). Para evaluar la calidad de estos sedimentos se compararon con los niveles guía para cuerpos de agua dulce del Canadian Council of Ministers of the Environment (CCME), para la protección acuática, y los valores recomendados para la Gestión del Material Dragado en los Puertos de España (utilizados actualmente para el control del refulado que se genera en el mantenimiento de la Hidrovía Paraná-Paraguay). Los niveles de Cadmio fueron en promedio de 0,54 mg/Kg (0,06-6,7 mg/Kg), los de Cobre 17,9 mg/Kg (3,7-57,2 mg/Kg), los de Cromo 19,7 mg/Kg (3,6-52,4 mg/Kg) y los de Plomo 13,0 mg/Kg (5,0-25,3 mg/Kg). Observándose que, excepto el Plomo, todos los demás metales superaron con una baja frecuencia los valores guía del CCME, principalmente en las playas de Sarandí, Santo Domingo, Bernal y Quilmes; sin embargo, según los niveles guías para dragado, sólo el Cadmio es superado esporádicamente. Con respecto a la distribución temporal no se observan diferencias significativas a lo largo de los años evaluados. De acuerdo a los niveles de metales pesados hallados, no se recomienda usar las playas de Sarandí, Santo Domingo, Bernal y Quilmes, para usos recreativos.