



Enfermedades de ovinos, caprinos y camélidos sudamericanos



Editado por Carlos Robles



Enfermedades de los ovinos, caprinos y camélidos sudamericanos

Libro de Resúmenes
Proyecto PNSA 1115055

Editado por
M.V. M.Sc. Carlos Robles

Ediciones INTA, 2018

ISSN: 1667-4006

Título: Enfermedades de ovinos, caprinos y camélidos sudamericanos

Title: Diseases of sheep, goat and south american camelids

Libro de resúmenes, Proyecto PNSA 1115055

1ra edición 2018

Edición: Carlos Robles

Arte de Tapa y compaginación: Patricia López

Foto de fondo de tapa y contratapa: C. Robles

Fotos de tapa: C. Robles y N. Giovannini

Fotos de contratapa: M. Larroza, V. Suarez, A. Martínez, C. Robles

Reservados todos los derechos de la presente edición para todos los países. Este libro no podrá ser reproducido total o parcialmente por ningún método gráfico, electrónico, mecánico o cualquier otro, incluyendo sistemas de fotocopia y fotoduplicación, registro magnetofónico o alimentación de datos, sin expreso consentimiento del editor.

Lugar de impresión: San Carlos de Bariloche, Provincia de Río Negro, Argentina

PROLOGO

En el año 2009, en el marco de la entonces Area Estratégica de Salud Animal del INTA, se inicia el proyecto AESA N° 3596 enfocado a estudiar las *Enfermedades de ovinos, caprinos y camélidos* y que a partir del año 2013 ya en el marco del Programa Nacional de Salud Animal con el título de *Enfermedades infecciosas, parasitarias y toxico-metabólicas que afectan la productividad de los ovinos, caprinos y camélidos sudamericanos (PNSA 1115055)*, llega hasta el presente con un volumen importante de trabajo y diversidad de actividades.

Durante la ejecución de ambos proyectos, además de las acciones realizadas y productos obtenidos, se fue desarrollando una red de trabajo que llega hasta nuestros días fortalecida en su funcionamiento, en sus capacidades técnicas y en su presencia territorial, para dar respuesta a las demandas del sector ganadero específico que abarca las grandes áreas de producción de ovinos, caprinos y camélidos.

Si bien el proyecto PNSA 1115055 fue la columna vertebral de estas actividades, un número importante de proyectos del INTA (PEs, Profeder, PRETs) y extrainstitucionales (PICTs, convenios con empresas privadas, Fundaciones, etc.) interactuaron en muchas de las actividades llevadas adelante, haciendo también un importante aporte a los logros que aquí estamos presentando.

Pronto a la finalización de esta fructífera etapa, y a fin de dejar plasmado en un documento institucional la labor desarrollada, nos propusimos recopilar presentaciones a congresos, publicaciones en revistas científicas, informes técnicos, etc. y compaginarlas en un libro de resúmenes con dos objetivos claros. El primero es mostrar y poner a disposición del público la producción técnica de casi 9 años de trabajo. El segundo es identificar, reconocer y mostrar a la sociedad el grupo de investigadores, extensionistas, auxiliares de laboratorio y de campo de INTA y de otras Instituciones que colaboraron en los trabajos que integran la obra y que conforman al día de hoy una RED informal de Sanidad de Ovinos, Caprinos y Camélidos liderada por el INTA en todo el territorio nacional.

El libro esta estructurado en 3 capítulos correspondientes a Enfermedades infecciosas, Enfermedades parasitarias y Enfermedades tóxicas y metabólicas.

Es para mí un honor poder presentar este libro y una oportunidad para agradecer a todo el personal de INTA y de otras Instituciones que participaron y colaboraron con entusiasmo en la escritura del mismo.

Carlos Robles
Coordinador PNSA 1115055

Colaboradores

Lic. Biotec. Alejandra Abdala
Grupo de Salud Animal
INTA Bariloche, Río Negro
abdala.alejandra@inta.gov.ar

MV, Mgtr. Marcelo Aguilar
AER San Julian, INTA Santa Cruz
aguilar.marcelo@inta.gov.ar

Lic. Biol. Dra. Lucia Alvarez
IPATEC (CONICET-UNCo)
alvarez.lucia@comahue-conicet.gov.ar

MV. Mgtr Daniel Aguirre
Área Salud Animal, INTA IIACS Leales/EEA Salta
aguirre.daniel@inta.gov.ar

MV. M.Sc. Dr. Oscar Anziani
INTA Rafaela
anziani.oscar@inta.gov.ar

MV. Romina Apostolo
Area de producción Animal
INTA EEA Esquel
apostolo.romina@inta.gov.ar

MV. Dr. Daniel Bedotti
INTA Anguil
bedotti.daniel@inta.gov.ar

Lic. Biol. Mercedes Cafrune
Área Salud Animal, INTA IIACS Leales/EEA Salta
cafrune.wierna@inta.gov.ar

Vet. PhD. German Cantón
Grupo de Sanidad Animal
INTA Balcarce
canton.german@inta.gov.ar

Vet. Mgtr. Ana Dodero
Área Salud Animal, INTA IIACS Leales/EEA Salta
dodero.ana@inta.gov.ar

Vet. Dra. Andrea Fiorentino
Grupo de Sanidad Animal
INTA Balcarce
fiorentino.maria@inta.gov.ar

MV. Dra. Marcela Larroza
Grupo de Salud Animal
INTA Bariloche, Río Negro
larroza.marcela@inta.gov.ar

MV. M.Sc. Mercedes Lloberas
Grupo de Sanidad Animal
INTA Balcarce
lloberas.maria@inta.gov.ar

Lic. Biol. Mgtr. Romanela Marcellino
Grupo de Salud Animal
INTA Bariloche, Río Negro
marcellino.romanela@inta.gov.ar

Vet. Dr. Agustin Martínez
Grupo de Salud Animal
INTA Bariloche, Río Negro
martinez.agustin@inta.gov.ar

MV. Juan Micheloud
Área Salud Animal, INTA IIACS Leales/EEA Salta
micheloud.juan@inta.gov.ar

Bioq. Dra. Ana Clara Mignaqui
Grupo de Salud Animal
INTA Bariloche, Río Negro
mignaqui.anaclara@inta.gov.ar

Lic. Biol. Dra. Andrea Peralta
Instituto de Biotecnología
INTA Castelar
peralta.andrea@inta.gov.ar

MV. M.Sc. Carlos Robles
Grupo de Salud Animal
INTA Bariloche, Río Negro
robles.carlos@inta.gov.ar

Lic Biol. Dra. Alejandra Romera
Instituto de Virología
INTA Castelar
romera.alejandra@inta.gov.ar

MV Sandra Romero
IPAF, INTA Región NOA
romero.sandra@inta.gov.ar

MV. Dr. Carlos Rossanigo
Grupo de Sanidad Animal
INTA Villa Mercedes, San Luis
rossanigo.carlos@inta.gov.ar

MV. Aldo Smeriglio
Producción Caprina
INTA Las Breñas, Chaco
smeriglio.aldo@inta.gov.ar

MV. Dr. Javier Schapiro
Instituto de Patobiología
INTA Castelar
schapiro.javier@inta.gov.ar

MV. Dr. Victor Suarez
Área Salud Animal, INTA IIACS Leales/EEA Salta
suarez.victor@inta.gov.ar

MV. Mgtr. Tomas Vera
IPAF, INTA Región NOA
vera.tomas@inta.gov.ar

***ENFERMEDADES
INFECCIOSAS***

TABLA DE CONTENIDOS

Serología positiva a <i>Chlamydia abortus</i> en cabras con antecedentes de abortos del departamento Chamental-Provincia de La Rioja, Argentina.....	3
<i>Chlamydia pecorum</i> : Lesiones fetales y placentarias en un aborto esporádico en cabras.....	5
<i>Bacillus licheniformis</i> como causante de aborto esporádico en caprinos.....	7
Aborto ovino por <i>Neospora caninum</i> : Primera descripción de un caso en Argentina.....	9
Presencia de anticuerpos contra <i>Toxoplasma gondii</i> y <i>Neospora caninum</i> y su relación con abortos en cabras de la provincia de La Rioja, Argentina.....	11
Primer caso de abortos y natimortos por <i>Toxoplasma gondii</i> en ovinos de Argentina.....	13
Aborto ovino por <i>Brucella melitensis</i> en una majada mixta con caprinos en Salta, Argentina.....	15
<i>Campylobacter fetus</i> subespecie fetus asociado a un brote de abortos en ovinos.....	17
Listeriosis neonatal en cordero: Reporte de un caso.....	19
Aislamiento de <i>Escherichia coli</i> verotoxigénico a partir de ovejas con vaginitis.....	21
Efectos de <i>Escherichia coli</i> aislada de casos de vaginitis sobre calidad espermática en ovinos.....	23
Estrategia de intervención comunitaria: Abordaje del aborto en sistemas de producción caprina de La Rioja.....	25
Balanopostitis y Vulvitis Ulcerativa Infecciosa en ovinos Merino de la Patagonia Argentina.....	27
Encuesta serológica sobre Brucelosis en caprinos de la provincia de Mendoza.....	29
Brucelosis caprina: Encuesta serológica en majadas de la Quebrada de Humuaca, provincia de Jujuy, Argentina.....	31
Brucelosis caprina: Encuesta serológica en majadas de los Valles Calchaquies, provincia de Salta, Argentina	33
Respuesta inmune y comportamiento de las pruebas de BPA, FPA y Elisa indirecto, en caprinos vacunados con la vacuna <i>Brucella melitensis</i> REV I aplicada vía conjuntival en dosis completa....	35
Puesta a punto de una PCR para la detección y diferenciación de cepas de <i>Brucella melitensis</i> de campo y cepa vacunal REV-1.....	37
Brucelosis ovina en Patagonia: Análisis de 15 años de diagnóstico en el INTA Bariloche.....	39
Aspectos epidemiológicos asociados a la Brucelosis ovina en Tierra del Fuego.....	41
Evaluación de un kit de ELISA indirecto para el diagnóstico serológico de <i>Brucella ovis</i>	43
Brucelosis ovina: Diagnóstico molecular en Patagonia.....	45
Evaluación de una PCR en tiempo real para el diagnóstico de la Brucelosis ovina en Patagonia.....	47
Brote atípico de Ectima Contagioso en ovinos Merino de la Patagonia Argentina.....	49
Brotos de Ectima Contagioso en majadas ovinas y caprinas del centro-oeste argentino: Identificación molecular de Virus ORF.....	51
Confirmación molecular de un brote de Ectima Contagioso en ovinos del partido de Balcarce, Argentina.....	53
Identificación y caracterización molecular de Virus ORF en Argentina.....	55

Análisis filogenético del Virus ORF en cinco brotes de Ectima Contagioso en cabras de Argentina.....	57
Evidencia preliminar del virus de la Artritis-Encefalitis Caprina (CAE) y el Virus Maedi-Visna (MVV) en cabras de San Luis.....	59
Virus de la Artritis-Encefalitis Caprina en las provincias de Salta y Jujuy.....	61
Presentación clínica de un caso de Artritis-Encefalitis Caprina (CAE) y Toxoplasmosis en San Luis (Argentina).....	63
Lesiones macroscópicas, microscópicas y alteraciones hematológicas en un caso de Artritis- Encefalitis Caprina en la Provincia de La Pampa.....	65
Puesta a punto de dos técnicas de PCR para la detección del Virus de la Artritis-Encefalitis Caprina.....	67
Obtención y evaluación de cultivos primarios de origen epitelial para el aislamiento de los virus CAEV y ORFV.....	69
Puesta a punto de un ensayo de PCR para la detección de Lentivirus en pequeños rumiantes: CAEV y MVV.....	71
Aspectos clínicos de “Lana Sisal” o “Lana Engrasada” en ovinos Merino de la Patagonia.....	73
Hallazgos microbiológicos en ovinos Merino de la Patagonia Argentina afectados con Lana Sisal o Lana Engrasada	75
Diagnóstico molecular de Lana Sisal en ovinos Merino de la Patagonia.....	77
Análisis genómico comparativo de <i>Corynebacterium bovis</i> aislado de casos clínicos de Lana Sisal.....	79
Seroprevalencia a Herpesvirus caprino en distintas regiones de Argentina.....	81
Estudio de seroprevalencia a herpesvirus caprino en cabras de distintas regiones de Argentina....	83
Seroprevalencia a Herpesvirus caprino en la provincia de San Luis.....	85
Diagnóstico molecular de <i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i> en ovinos de la Patagonia.....	87
<i>Clostridium perfringens</i> en pequeños rumiantes de la Patagonia.....	89
Descripción clínica de casos compatibles con enterotoxemia caprina del sudoeste del Chaco.....	91
Osteomeningomielitis lumbo-sacro-coccígea en cordera post caudectomía.....	93
Relevamiento sanitario en rebaños ovinos y caprinos de la región sur de la provincia de Río Negro.....	95
Relevamiento sanitario en caprinos en el peri-valle de la provincia de Río Negro, Argentina.....	97
Evaluación sanitaria de vicuñas (<i>Vicugna vicugna</i>) manejadas por comunidades aborígenes del Departamento Yavi, Jujuy	99
Botiquín comunitario en paraje Pampa del Zorro, Chaco.....	101
Brucelosis caprina: Estudio serológico en rebaños del este de Salta, Argentina.....	103

SEROLOGÍA POSITIVA A *Chlamydia abortus* EN CABRAS CON ANTECEDENTES DE ABORTOS DEL DEPARTAMENTO CHAMICAL, PROVINCIA DE LA RIOJA, ARGENTINA

Fiorentino M.A.¹; Brunello G.E.²; Castro M.A.⁴; Cabral Ortiz D.A.³; Aguilera N.⁵; Villagran E.⁴; Vera T.A.²
¹INTA EEA Balcarce; ²INTA EEA La Rioja; ³INTA AER Chepes; ⁴INTA AER Chamical; ⁵INTA AER El Portezuelo

Introducción

Los abortos en los pequeños rumiantes son de gran importancia debido a las pérdidas económicas que ocasionan en la producción y a sus implicancias en la salud pública por el carácter zoonótico de algunos de los agentes que los ocasionan. *Chlamydia abortus* es un patógeno obligado, que exhibe tropismo por la placenta, causante del aborto enzootico ovino, siendo además una enfermedad zoonótica. En un hato o rebaño recién infectado la tasa de abortos es alta. Frecuentemente del 30% o más, y a veces hasta el 90% de las cabras gestantes abortan. La alta tasa de abortos es observada en los primeros 2 ó 3 años y después la enfermedad toma una naturaleza cíclica: el 10% de las hembras gestantes abortarán cada año por varios años hasta que un nuevo brote ocurre y entonces todas las hembras las cabrillas y borregas abortarán. Esta situación por la inmunidad que adquieren los animales luego del aborto: es excepcional que una oveja o cabra aborte dos veces. Las cabras típicamente abortan en las últimas 2 o 3 semanas de gestación, o puede suceder que su periodo de gestación sea normal pero paran cabritos muertos o muy débiles que mueren durante los primeros días de vida. Algunas cabrillas se infectan en útero y nacen sanas pero se transforman en portadoras que abortan en el transcurso de su primera preñez. La clamidiosis es una de las causas más importantes de aborto ovino y caprino a nivel mundial. En Suiza, la prevalencia de la enfermedad en los ovinos fue estimada en aproximadamente el 19% y en España, la seroprevalencia fue del 50,5% sobre 52 rebaños estudiados. En Argentina son escasos los trabajos realizados, evidencias serológicas de la enfermedad han sido reportadas en rebaños de la provincia de Bueno Aires y de La Pampa pero hasta el momento se desconoce el real impacto de la enfermedad en nuestros rebaños.

La provincia de La Rioja tiene 226.987 cabezas caprinas y aproximadamente 3.654 establecimientos dedicados a esa actividad. El área de mayor producción caprina se encuentra en los Llanos. La ganadería caprina regional se basa su finalidad en la obtención de cabritos para el autoconsumo y la venta al destete (mamones), siendo la provincia de Córdoba el principal canal de comercialización

y de provisión de insumos para los pequeños productores de la región, a través del cabritero que representa un eslabón de importancia para el productor.

El objetivo del presente trabajo fue investigar la presencia de seroreactores positivos a *C. abortus* en cabras con antecedentes de abortos de región de Los Llanos en la provincia de La Rioja.

Materiales y Métodos

Se recolectaron sueros de cabras procedentes de establecimientos del Dpto. Chamical, (La Rioja, Argentina). Los animales procedían de sistemas de cría caprina extensivos, eran seronegativos a brucelosis y pertenecían a pequeños productores familiares. Durante el año 2014 se registró en estos rebaños una tormenta de abortos que llevó a la pérdida de gran parte de la producción de cabritos de ese año.

Con estos antecedentes, se procedió a la toma de muestras de sangre por punción yugular de un total de 246 animales pertenecientes a 17 productores de los parajes: Esquina del Norte, San Antonio y San Nicolás, Las Breas, Los Bordos y Los Molles. Por cada productor, se realizaron toma de muestras pareadas (una al inicio de los abortos y otra a los 15 días posteriores) de igual cantidad de animales con y sin antecedentes abortos.

Para evaluar la presencia de anticuerpos específicos contra *C. abortus* se utilizó un ELISA indirecto comercial (ID Screen® *Chlamydia abortus* Indirect Multi-species, ID.vet, Francia). La lectura se realizó en lector de ELISA (Titertek, Multiskan, ICN, Finlandia) a una densidad óptica (DO) de 450 nm. Para cada muestra se calculó el S/P% utilizando la siguiente fórmula:

$$SP\% = \frac{DO \text{ muestra}}{DO \text{ control positivo}} \times 100$$

La interpretación de los resultados se realizó siguiendo las recomendaciones del fabricante. Las muestras con un valor de $S/P\% \leq 50\%$, $50\% < S/P\% < 60$ o $S/P\% \geq 60\%$, fueron consideradas negativas, sospechosas o positivas, respectivamente.

Resultados

En la Tabla 1 se observa la cantidad de animales seroreactores positivos para cada paraje evaluado, como se puede ver en todos los parajes se detectó al menos un animal positivo. Del total de animales muestreados, 136 (55,3%) habían abortado antes del primer muestreo o entre el primer y segundo muestreo, siendo el porcentaje total de seropositivos del 20,6% (28/136). Por otro lado, entre los animales que parieron normalmente el porcentaje de seroreactores positivos fue del 18,2% (20/110). La mayor cantidad de seroreactores se detectaron en los parajes de Esquina del Norte y San Antonio y San Nicolás, los resultados se observan en la Tabla 1. En el resto de los parajes el porcentaje de positivos no superó el 8%.

Tabla 1. Animales seroreactores positivos por paraje.

Paraje	Animales	
	n	Positivos (%)
Esquina del Norte	79	28 (35,4)
S. Antonio, San Nicolás	26	15 (57,7)
Saladillo, T. Verde y , L. Negra	26	2 (7,7)
Las Breas	49	1 (2)
Los Bordos	66	1 (1,5)
Total	246	47 (19,1)

Discusión

Los Llanos de La Rioja están integrados por 9 departamentos, ubicados al sur de la provincia donde una de las principales actividades ganaderas llevada a cabo por pequeños productores es la producción caprina de cría, bajo sistemas extensivos. El presente trabajo se realizó específicamente sobre rebaños pertenecientes al Dpto. Chamical, la cantidad de animales seropositivos fue especialmente alta en los productores de los parajes de Esquina del Norte y San Antonio y San Nicolás. En estas explotaciones extensivas ante la precariedad o ausencia de alambrados en los predios, las cabras pastorean durante el día en tierras que exceden los límites de sus propietarios mezclándose con otras majadas. Esta situación complejiza las relaciones epidemiológicas entre las majadas y por ende las estrategias de control y prevención de las enfermedades caprinas por parte de sus dueños. Las cabras infectadas abortan una única vez, pueden presentar títulos serológicos durante 3 años y eliminar *C. abortus* durante sucesivos estros, de esta manera se mantiene la fuente de infección en el rebaño.

Si bien el agente causal no pudo ser evidenciado en los fetos evaluados (datos no mostrados), los altos niveles de seropositividad encontrados principalmente en

los rebaños de Esquina del Norte y San Antonio y San Nicolás sugieren la presencia activa de la enfermedad en los mismos. Por otro lado, el estrecho contacto entre las cabras y sus cuidadores (muchas veces mujeres e incluso niños) y la falta de medidas de bioseguridad en el manejo de los abortos, pone en riesgo a estas personas de adquirir enfermedades zoonóticas como la que aquí se investigó y otras.

Conclusiones

En el presente trabajo mediante la utilización de una prueba de ELISA comercial se demuestra de manera indirecta que *C. abortus* circula en cabras de la región de Los Llanos de La Rioja. La prueba aquí utilizada ha demostrado previamente ser más específica que la fijación de complemento, descartando la posibilidad de reacciones cruzadas con *Chlamydia pecorum* u otras enterobacterias.

Futuros trabajos deberían realizarse con el fin de confirmar mediante aislamiento o PCR estos hallazgos serológicos y en función de los resultados encuadrar los planes de control de la enfermedad en la zona. Por otro lado, sería deseable conocer el estatus serológico de los rebaños del resto del país considerando el potencial zoonótico de esta enfermedad y la escasa información con la que contamos a nivel país.

Bibliografía

- Rodolakis A. *et al.* 1998. *Vet Res* 1998, 29:275-288.
- Sachse K. *et al.* 2009. *Vet Microbiol*, 135(1-2), 2-21.
- Fiorentino MA. *et al.* 2003. 1er Foro Nacional sobre Infecciones por *Chlamydia* spp en Humanos y Animales. 13 de Diciembre, Córdoba.
- Bedotti D. *et al.* 2008. XVII Reunión Científico Técnica de la AAVLD. 29-31 de Octubre.



***Chlamydia pecorum*: LESIONES FETALES Y PLACENTARIAS EN UN ABORTO ESPORÁDICO EN CABRAS**

Giannitti, F.¹⁻²⁻³; Anderson, M.³; Miller, M.⁴; Rowe, J.³; Sverlow, K.³; Vasquez, M.⁴; Cantón, G.⁵
¹University of Minnesota; ²INIA Uruguay; ³University of California, USA; ⁴University of Wyoming, USA; ⁵INTA EEA Balcarce

Introducción

Las causas de pérdidas reproductivas en pequeños rumiantes no han sido estudiadas extensivamente en nuestra región. Si bien internacionalmente, se considera que especies de *Chlamydiales* pueden ser causa frecuente de estas pérdidas, estos abortos en pequeños rumiantes usualmente se asocian a infecciones por *Chlamydia abortus*.

Sin embargo, *Chlamydia pecorum* ha sido detectada en abortos de rumiantes sugiriendo el rol de este agente como causal de pérdidas reproductivas en estas especies. Sin embargo, no hay muchas descripciones patológicas en fetos abortados por este agente.

Este trabajo describe las lesiones feto-placentarias en un aborto caprino por *C. pecorum* en Estados Unidos de América, confirmando el rol abortigénico del agente en rumiantes.

Materiales y Métodos

Una cabra Boer de 16-meses de edad abortó mellizos a los ~130 días de gestación. Se remitieron para analizar ambos fetos (A y B) y la placenta de uno de ellos (A) para hacer examen *post mortem* y aplicar diferentes técnicas de diagnóstico. Se recolectó placenta y intestino delgado de ambos fetos para realizar inmunohistoquímica (IHQ) para *Chlamydia* spp. y *Coxiella burnetii*.

Se recolectaron muestras de placenta, fluido abomasal, pulmón e hígado de ambos fetos para cultivo de aerobios y microaerófilos en agar sangre de oveja a 35-39°C durante 48 hs. También se realizaron cultivos específicos para *Campylobacter* spp. y *Brucella* spp. Se hicieron improntas de riñón de ambos fetos para hacer inmunofluorescencia directa (IFD) para *Leptospira* spp. Se analizó fluido de cavidad torácica para detectar anticuerpos contra el virus de la Diarrea Viral Bovina (vDVB), enfermedad de Border (BD), Lengua azul (BTV), *C. burnetii*, *Brucella* spp., *Toxoplasma gondii* y *Leptospira* spp. Se analizó el cerebro para detectar el virus de Schmallenberg y bunyavirus por PCR. Se analizaron secciones de placenta e intestino delgado para amplificar ADN de *Chlamydia* spp. por PCR y secuenciación.

Resultados

Durante la necropsia, los fetos presentaban moderada autólisis, anasarca, edema intramuscular en los miembros posteriores (A), braquignatia, y palatosquisis (B). En la placenta, los cotiledones estaban cubiertos por un exudado fibrinosupurativo que se extendía a las áreas intercotiledonarias.

Histológicamente, se detectó una placentitis necrosupurativa severa con vasculitis (arteriolitis) y trombosis, hepatitis linfocítica y neutrofílica (A) y enteritis fibrinosupurativa severa en ambos fetos.

Se detectó *Chlamydia* en la placenta por IFD y en los intestinos por IHQ.

Se amplificó un producto de 400pb del gen 16S de *Chlamydia* spp que fue secuenciado y se confirmó un 99% de identidad con *C. pecorum* por análisis BLAST. Se descartaron otros agentes abortigénicos.

Foto 1. Placentitis supurativa con arteritis mural necrotizante (detalle) (H&E).

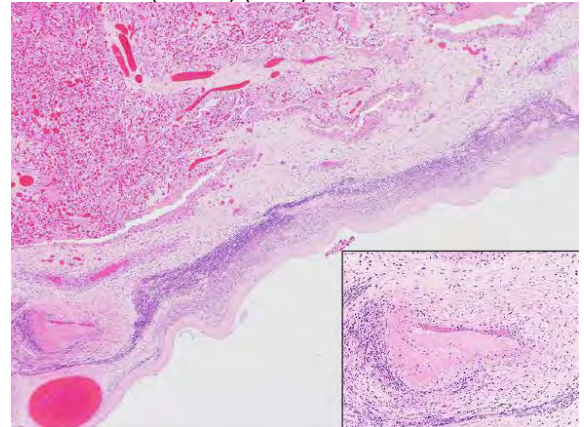


Foto 2. Placenta. Célula trofoblástica binucleada con abundantes bacterias intracitoplasmáticas basófilas consistente con cuerpos reticulares de *Chlamydia*.

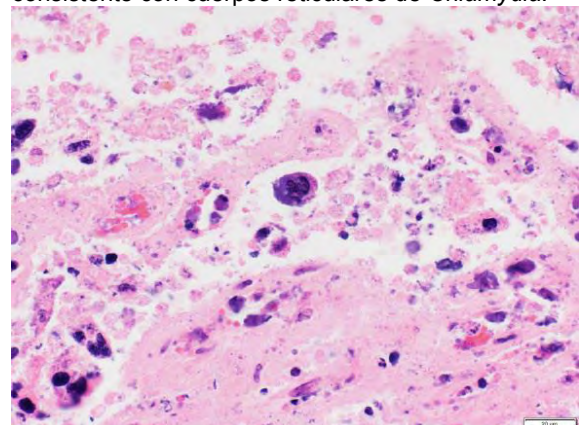


Foto 3. Intestino delgado. Exudado fibrinosupurativo en la luz intestinal (flecha). En el detalle (arriba derecha), un enterocito conteniendo abundantes bacterias basofílicas intracitoplasmáticas, similares a cuerpos reticulares de *Chlamydia*.

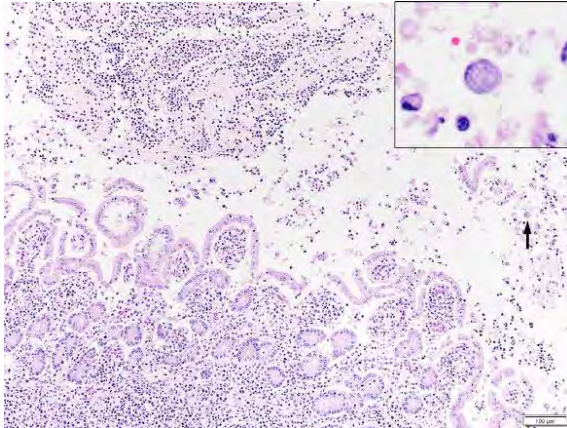
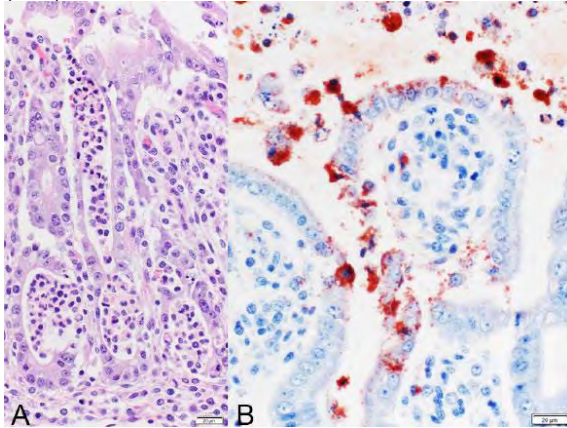


Foto 4. Feto A. (A) Infiltrado neutrofilico en la luz de criptas de intestino (H&E). (B) Inmunomarcaje de *Chlamydia* spp. en el citoplasma de enterocitos (IHQ).



Discusión

Generalmente se asocia a las infecciones por *C. abortus* con las pérdidas reproductivas de los rumiantes. Este reporte describe las lesiones placentarias y fetales en una cabra abortada por *C. pecorum*.

Se desconocen los mecanismos por los que el agente llega a la placenta y el feto, pero se mencionan infecciones intestinales subclínicas en majadas con o sin historia de abortos, actuando los animales como portadores asintomáticos. Excepcionalmente algunos de estos portadores pueden desarrollar enfermedad severa, luego de una situación estresante. De acuerdo a estudios previos, se ha sugerido que *C. pecorum* puede diseminarse desde el intestino hacia la circulación sanguínea y de esta manera llegar a la placenta y de esta manera inducir el aborto.

Debido a que hay similitudes antigénicas entre *C. abortus* y *C. pecorum*, la infección no se puede distinguir por métodos inmunológicos (IHQ o IFD), y la confirmación requiere métodos moleculares como los usados en este reporte.

Conclusiones

Se concluye que la infección por *C. pecorum* estuvo asociada con las lesiones fetoplacentarias y la causa de aborto. Se debería investigar la prevalencia de *C. pecorum* como causal de abortos en rumiantes. Si bien este reporte describe un brote ocurrido en Estados Unidos de América, se desconoce la real incidencia de esta infección en nuestro país, y solo existen estudios seroepidemiológicos sobre la incidencia de infección por *Chlamydiales* en nuestros rebaños caprinos y ovinos.

Actualmente se están realizando estudios para tratar de evaluar la incidencia de este (*C. abortus*) y otros agentes infecciosos de la reproducción (*Toxoplasma gondii* y *Neospora caninum*) en pequeños rumiantes de Argentina. Por lo tanto, si estos estudios resultan exitosos, se tendrá información local y regional al respecto, para tratar de instaurar medidas de control de estas mermas, que tanto impacto tienen en estos sistemas pecuarios.

Bibliografía

- Berri, M.; Rekiki, A.; Boumedine, K.; Rodolakis, A. 2009. Simultaneous differential detection of *Chlamydophila abortus*, *Chlamydophila pecorum* and *Coxiella burnetii* from aborted ruminant's clinical samples using multiplex PCR. BMC Microbiol 9:130.
- Fiorentino, M., Brunello, G., Castro, M., Cabral Ortiz, D., Aguilera, N., Villagran, E., Vera, T. 2015. Serología positiva a *Chlamydia abortus* en cabras con antecedentes de abortos de La Rioja, Argentina. 9no Seminario de la Fundación "Charles Louis Davis" en Argentina.
- Rojas, M., Fort, M., Bettermann, S., Entrocassi, C., Costamagna, S., Sachse, K., Rodríguez Fermepin, M. 2018. Detection of *Chlamydia abortus* in bovine reproductive losses in the province of La Pampa, Argentina. Rev Argent Microbiol. 0325-7541(17).
- Shewen, P. 1980. Chlamydial infection in animals: a review. Can Vet J 21:2-11.
- Storz, J. 1988. Overview of animal diseases induced by chlamydial infections. In: Barron AL, ed. Microbiology of *Chlamydia*. Boca Raton, FL: CRC Press. Pp: 167-192.

***Bacillus licheniformis* COMO CAUSANTE DE ABORTO ESPORÁDICO EN CAPRINOS**

Fiorentino, M.A.¹; Morrell, E.¹; Gos, L.²; Paolicchi, F.¹

¹Grupo de Sanidad Animal INTA EEA Balcarce; ²Universidad Nacional de La Plata

Introducción

Los abortos en los pequeños rumiantes son de gran importancia debido a las pérdidas económicas que ocasionan en la producción y a sus implicancias en la salud pública por el carácter zoonótico de algunos de los agentes que los ocasionan.

En nuestro país la mayor información sobre la ocurrencia de enfermedades abortigénicas en pequeños rumiantes se refiere a *Brucella melitensis* y *Toxoplasma gondii*. Del resto de las enfermedades, existen escasos datos de prevalencia, siendo el aislamiento de algunos agentes reportado de manera esporádica.

Bacillus licheniformis es una bacteria ubicua, gram positiva y formadora de endoesporos que ha sido asociada en las últimas décadas con la presentación de abortos en bovinos, ovinos y porcinos. Su aislamiento es regularmente informado en los laboratorios de diagnóstico alrededor del mundo, pero la mayor cantidad de reportes proviene de Europa. En bovinos se la ha relacionado con la presentación de abortos con una incidencia que fluctúa entre el 1-10%. Murray (2006) lo identifica como el segundo agente diagnosticado con más frecuencia (siendo el primero *Neospora caninum*) sobre 5662 episodios de abortos bovinos investigados en el Reino Unido en el año 2003. Además de las infecciones del tracto genital, *B. licheniformis* ha sido relacionado con casos de enteritis, mastitis, septicemia, neumonía en bovinos; y casos de septicemia, peritonitis, oftalmatitis e intoxicación alimentaria en humanos.

En el presente trabajo se describe el aislamiento de *B. licheniformis* realizado a partir de un feto caprino proveniente de un tambo comercial.

Materiales y Métodos

Un feto caprino proveniente de un tambo caprino (raza Saanen) de la provincia de Buenos Aires fue remitido al Laboratorio de Bacteriología de la EEA INTA de Balcarce para la investigación de etiología del aborto. Se realizó la determinación de la edad fetal y posterior necropsia. Durante la misma se tomaron muestras de pulmón, líquido de abomaso e hígado para cultivo bacteriológico. Por otro lado, se recolectaron muestras de diferentes órganos para realizar estudios histopatológicos, los mismos fueron colocados en formol tamponado al 10% y posteriormente

embebidos en parafina, se cortaron secciones de 4-5 µm. y se tiñeron con hematoxilina-eosina.

Las muestras para bacteriología se cultivaron a 37°C en placas con agar Columbia adicionado con 7% de sangre bovina defibrinada (ASC, 10% CO₂), en agar Mc Conkey (MC, aerobiosis) y en agar Skirrow (5% O₂, 5-10% CO₂ y 85-90% H₂), durante 1, 2 y 7 días, respectivamente. Colonias aisladas fueron repicadas y los aislamientos fueron caracterizados utilizando el kit comercial de identificación API 50 CHB (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France) siguiendo las especificaciones del fabricante: Las galerías fueron incubadas a 37° C en cámara húmeda y leídas a las 24 y 48 horas. La identificación final fue realizada utilizando el programa API Lab1 (versión 2.1), donde los perfiles de reacción fueron comparados con la base de datos.

Muestras de cerebro y líquido de cavidad torácica fueron colectadas para el diagnóstico de *Toxoplasma gondii* mediante PCR e Inmunofluorescencia Indirecta (IFI), respectivamente. Este último se realizó en el Laboratorio de Inmunoparasitología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata.

Resultados

El feto remitido presentó un peso de 260 gr y una longitud desde la corona a la base de la cola de 15,5 cm, por lo cual la edad de gestación fue estimada en aproximadamente 60-70 días. Durante la necropsia no se observaron lesiones macroscópicas.

Luego de 24 horas de incubación desarrollaron sobre el ASC en pureza, colonias rugosas blanco grisáceas y beta hemolíticas (Foto 1). Las mismas se observaron en todas las muestras cultivadas. En los medios MC y Skirrow no se observó desarrollo bacteriano. Las colonias aisladas fueron clasificadas como *B. licheniformis*

En el examen histopatológico se observaron las siguientes alteraciones: abomasitis focal no supurativa, enteritis moderada mixta, hepatitis multifocal no supurativa y pericarditis no supurativa moderada. Las muestras de pulmón y cerebro no pudieron ser procesadas para histopatología.

Las muestras de cerebro y líquido de cavidad torácica analizadas fueron negativas a *T. gondii*.

Foto 1. Detalle de las colonias de *Bacillus licheniformes* creciendo en Agar Sangre Columbia + 7% de sangre bovina desfibrinada, luego de 24 h de incubación en atmósfera con 10% de CO₂.



Discusión

Bacillus licheniformis ha sido relacionada anteriormente como causante de abortos en especies rumiantes y no rumiantes. Infecciones experimentales en bovinos han demostrado que la bacteria penetra a través de la circulación materna a la interfase materno-fetal por la presencia de pequeñas hemorragias múltiples que ocurren en las carunculas durante la gestación. Posteriormente la infección transplacental se desarrolla a partir de la diseminación de la bacteria en los fluidos amniótico y alantoico. Aunque estos mismos autores, han sugerido que la infección del feto en algunos casos también podría ser vía hematogena. La patogenia del aborto por *B. licheniformis* en cabras es hasta el momento no ha sido reportada. Una amplia gama de bacterias han sido reportadas en asociación con la presencia de abortos en rumiantes, sin embargo muchas de ellas se encuentran en el medio ambiente y su mera presencia en los tejidos fetales o la placenta no es evidencia suficiente para que sean consideradas causantes de abortos. Precisamente este es el caso de *B. licheniformis* que al ser una bacteria ubicua, llegar a diagnosticarla como la causa de un aborto requiere que en primer lugar que el aislamiento sea hecho en pureza y en segundo lugar que este acompañado de lesiones histopatológicas compatibles en el feto y placenta. Respecto a estos últimos, la mayoría de los trabajos han sido realizados en bovinos.

En los abortos asociados a *B. licheniformis* los cambios histopatológicos más relevantes en los abortos bovinos se encuentran en la placenta y se caracterizan por la presencia de edema y hemorragias en el estroma acompañados de un infiltrado de polimorfonucleares aunque se describen además áreas con infiltración mononuclear. Los animales preñados están expuestos con frecuencia a esta bacteria debido a su amplia distribución en el medio ambiente. Si bien mediante infecciones experimentales se ha logrado reproducir el aborto en bovinos, se desconoce la razón por la cual en condiciones naturales algunos animales abortan y otros no. Algunos autores han especulado con la necesidad de factores concomitantes e inmunosupresores que estarían influenciando la presentación de los abortos. El establecimiento de procedencia del feto evaluado es un tambo de tipo intensivo, por lo cual factores relacionados con el estrés animal producto del sistema de explotación o la presencia de infecciones concomitantes como paratuberculosis o herpes virus caprino podrían tener efecto inmunosupresor y haber propiciado la infección con *B. licheniformis* y el posterior aborto, aunque este aspecto no pudo ser investigado en este caso.

Conclusión

En el presente trabajo *Bacillus licheniformis* fue diagnosticado como el causante del aborto de un feto caprino de aproximadamente 70 días de gestación. En cabras son escasos los casos reportados y en Argentina el presente constituye el primer reporte de esta bacteria en relación a la presentación de abortos en rumiantes.

Bibliografía

- Agerholm JS, Krogh HV, Jensen HE. 1995. A retrospective study of bovine abortion associated with *Bacillus licheniformis*. J. Vet. Med. B. 42:225-234.
- Agerholm JS, Willadsen CM, Nielsen TK, Giese SB, Holm E, Jensen E, Agger JF. 1997. Diagnostic studies of abortion in Danish dairy herds. J. Vet. Med. 44: 551-558.
- Agerholm JS, Jensen NE, Dantzer V, Jensen HE, Aarestrup FM. 1999. Experimental Infection of Pregnant Cows with *Bacillus licheniformis* Bacteria. Vet Pathol 36:191-201.
- Mitchel G, Barton MG. 1986. Bovine abortion associated with *Bacillus licheniformis*. Aust. Vet. J. 63(5):160-161.
- Murray. 2006. Practical approach to infectious bovine abortion diagnosis. XXIV World Buiatrics Congress. Nice, Francia.

ABORTO OVINO POR *Neospora caninum*: PRIMERA DESCRIPCIÓN DE UN CASO EN ARGENTINA

Hecker, Y.^{1,2}; Morrell, E.¹; Fiorentino, A.¹; Rivera, E.¹; Gual, I.¹; Fiorani, F.^{1,2}; Maldonado, J.³; Scioli, V.¹; Odeón, A.¹; Paolicchi, F.¹; Cantón, G.¹; Moore, P.^{1,2}
¹INTA EEA Balcarce; ²CONICET; ³Universidad de Cuenca, Ecuador

Introducción

La neosporosis es una causa de las principales causas de aborto en bovinos diagnosticada a nivel mundial, teniendo un impacto más relevante en los sistemas de producción de leche. Sin embargo, existen escasos reportes de pérdidas reproductivas por *Neospora caninum* en ovinos y su rol es aún discutido como una causa de abortos en pequeños rumiantes.

En Argentina se ha reportado una seroprevalencia a *N. caninum* del 3% en ovinos lecheros, sin embargo, hasta el presente no existen datos locales que asocien a *N. caninum* como causal de aborto en pequeños rumiantes, por lo que se está investigando su rol en las pérdidas reproductivas.

El objetivo del presente trabajo es describir por primera vez en Argentina, un caso de aborto ovino asociado a *N. caninum*, diagnosticado por el Servicio de Diagnóstico Veterinario Especializado del INTA Balcarce en octubre del 2017.

Materiales y Métodos

El aborto ocurrió en una majada de 200 ovejas Texel en el partido de General Paz, provincia de Buenos Aires, con sistema productivo extensivo. Además, en el establecimiento había además 105 vacas de cría.

Se remitió un feto abortado, macho de 112 días de gestación (aproximadamente) con su placenta al SDVE del INTA Balcarce para determinar la causa de la pérdida reproductiva que se estaba presentando en la majada.

Durante la necropsia se tomaron muestras de diferentes especímenes para realizar cultivo y aislamiento bacteriano (pulmón y líquido de abomaso). Además se recolectaron tejidos en formol al 10% para realizar estudios histopatológicos y de inmunohistoquímica (IHQ) para *N. caninum*, utilizando un anticuerpo policlonal y un kit comercial (Dako, USA). También se recolectaron tejidos que fueron congelados a -80°C para extraer luego ADN y realizar reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para detectar ADN de *N. caninum* y *Toxoplasma gondii*.

Se realizó inmunofluorescencia directa (IFD) para detectar *Campylobacter* spp. y *Leptospira* spp., e inmunofluorescencia indirecta (IFI) para determinar la presencia de anticuerpos contra

N. caninum y *T. gondii* en líquido de cavidad fetal.

Resultados

El sistema nervioso central (SNC) estaba licuefactivo, por lo tanto no pudo ser procesado para estudios histopatológicos y de IHQ. El resto de los tejidos fetales y la placenta tenían un moderado grado de momificación y autólisis. En el análisis histopatológico se observó placentitis linfohistiocítica moderada difusa con presencia de vasculitis linfohistiocítica y necrosis multifocal severa, glositis multifocal linfohistiocítica, pericarditis y endocarditis linfohistiocítica moderada difusa y miocarditis focalmente extensiva.

La IHQ para *N. caninum* resultó positiva en placenta (Fotos 1 a 3) y en lengua fetal y negativa en hígado, pulmón, corazón y bazo fetales.

Se detectaron anticuerpos para *N. caninum* y se amplificó ADN de *N. caninum* en placenta y SNC.

La PCR, IFI e IHQ para *T. gondii*, la IFD para *C. fetus* y *Leptospira* spp. y el cultivo bacteriano resultaron negativos.

Discusión

Las lesiones observadas en el feto y en la placenta analizada, en conjunto con los resultados de la serología fetal, y la detección intralesional de *N. caninum* por IHQ en la placenta y lengua fetal y por PCR en placenta y en SNC fetal permiten confirmar que el aborto fue causado por este protozoo, siendo este el primer reporte de abortos por neosporosis en ovinos de Argentina.

Probablemente, la IHQ para *N. caninum* en algunos de los tejidos fetales analizados resultó negativa debido a la baja sensibilidad de esta técnica y al moderado estado de autólisis que presentaban los tejidos recolectados durante la necropsia, hallazgo habitual en fetos abortados en sistemas de producción pecuaria.

Aunque en este caso no pudo ser incluido dado su severo estado de licuefacción, es importante destacar que siempre que sea factible deben tomarse muestras de SNC, sobre todo del tallo cerebral, debido que a pesar de la autólisis y la baja sensibilidad de la técnica, en algunas situaciones pueden llegar a evidenciarse quistes de *N. caninum* mediante IHQ.

Este trabajo representa la primera descripción de un caso de aborto ovino por *N. caninum* en Argentina.

Conclusiones

Teniendo en cuenta los hallazgos de este trabajo, es importante mejorar la información disponible localmente respecto al impacto de las infecciones por *N. caninum* en los establecimientos de cría ovina de diferentes regiones de Argentina, así como mejorar los conocimientos sobre diferentes aspectos epidemiológicos que expliquen estas pérdidas reproductivas.

En ese sentido, se seguirán realizando estudios para tratar de evaluar la implicancia que pueda llegar a tener *Neospora* como causa de pérdidas reproductivas de pequeños rumiantes de la región.

Además, deberían evaluarse aspectos epidemiológicos, sobre todo en majadas que pastoreen conjuntamente con bovinos, ya que en esta especie, los abortos por *N. caninum* son mucho más frecuentes, así como la presencia de hospedadores definitivos.

Foto 1. Inmunomarcaje positivo (flecha negra) en la placenta ovina (IHQ).

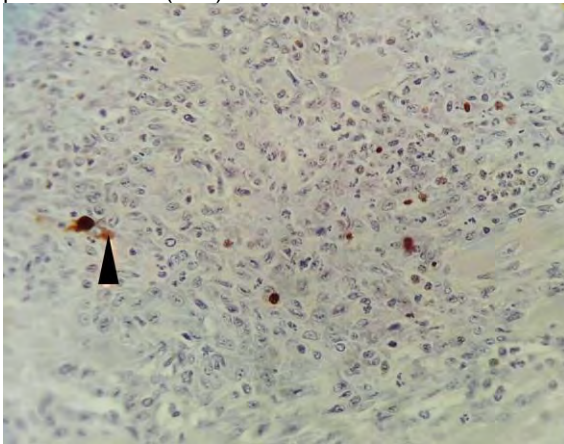


Foto 2. Inmunomarcaje positivo (flechas negras) en la placenta ovina (IHQ).

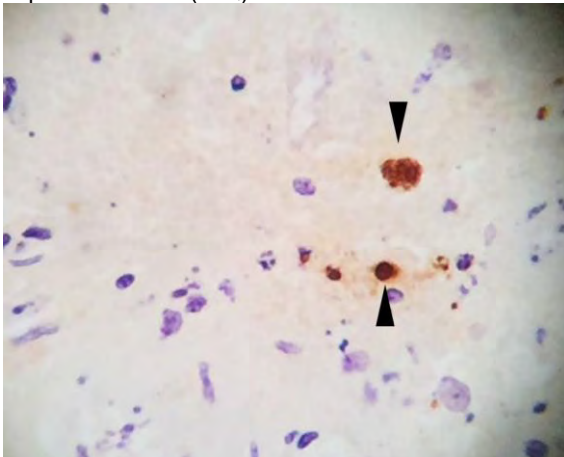
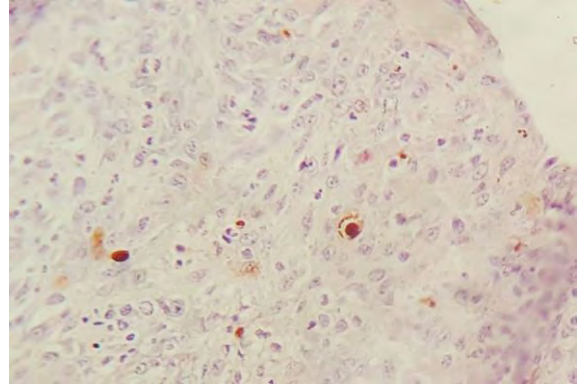


Foto 3. Inmunomarcaje positivo en la placenta ovina (IHQ).



Bibliografía

- Dubey, J.; Lindsay, D. 1990. *Neospora caninum* induced abortion in sheep. J Vet Diagn Invest 2: 230-233.
- González-Warleta, M.; Castro-Hermida, J.; Regidor-Cerrillo, J.; Benavides-Silván, J.; Álvarez-García, J.; Fuertes, M.; Ortega-Mora, L.; Mezo, M. 2014. *Neospora caninum* infection as a cause of reproductive failure in a sheep flock. Vet Res. 45(1): 88.
- Hecker, Y.; Moore, D.; Manazza, J.; Unzaga, J.; Späth, E.; Pardini, L.; Venturini, M.; Roberi, J.; Campero, C. 2013. First report of seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dairy sheep from Humid Pampa, Argentina. Trop Anim Health Prod. 45(7):1645-7.
- Micheloud, J.; Moore, D.; Canal, A.; Lischinsky, L.; Hecker, Y.; Cantón, G.; Odriozola, E.; Odeón, A.; Campero, C. 2015. First report of congenital *Neospora caninum* encephalomyelitis in two newborn calves in the Argentinean Pampas. Vet Sc Tech 6:5.
- Moore, D.; Regidor-Cerrillo, J.; Morrell, E.; Poso, M.; Cano, D.; Leunda, M.; Linschinky, L.; Odeón, A.; Odriozola, E.; Ortega-Mora, L.; Campero C. 2008. The role of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in spontaneous bovine abortion in Argentina. Vet Parasitol. 156(3-4):163-7.
- Moore, D.; Reichel, M.; Spath, E.; Campero, C. 2013. *Neospora caninum* causes severe economic losses in cattle in the humid pampa region of Argentina. Trop Anim Health Prod. 45(5):1237-41.
- West, D.; Pomroy, W.; Collett, M.; Hill, F.; Ridler, A.; Kenyon, P.; Morris, S.; Pattison, R. 2006. A possible role for *Neospora caninum* in ovine abortion in New Zealand. Small Ruminant Research 62: 135-138.

PRESENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA *Toxoplasma gondii* Y *Neospora caninum* Y SU RELACIÓN CON ABORTOS EN CABRAS DE LA PROVINCIA DE LA RIOJA, ARGENTINA

Gos, M.L.^{1,2}; Steffen, K.D.¹; Pardini, L.^{1,2}; Fiorentino, M.A.³; Vera, T.A.⁴; Brunello, G.E.⁴; Campero, L.M.^{1,2}; Unzaga, J.M.¹; Moré, G.A.^{1,2}; Venturini, M.C.¹
¹Lab Inmunoparasitología FCV-UNLP; ²CONICET; ³INTA EEE Balcarce; ⁴INTA EEE La Rioja

Introducción

Argentina tiene 4.7 millones de cabras que juegan un papel importante en el ingreso familiar a través de la provisión de leche, carne, piel y estiércol. La mayor parte de la producción de cabras en Argentina se realiza en pequeños rebaños, de raza criolla y con un manejo de tipo extensivo. En una menor proporción, la producción se desarrolla en sistemas semi-intensivos o intensivos, siendo establecimientos dedicados principalmente para la producción de leche y queso.

La toxoplasmosis es una importante zoonosis, en los animales tiene grados variables de patogenicidad, según la especie. La infección natural en los rumiantes no gestantes transcurre generalmente de manera asintomática, pero en las cabras puede producir muertes embrionarias, abortos o nacimiento de crías débiles cuando éstos se infectan durante la gestación. A diferencia de los ovinos, en cabras con infección latente, aún sin reinfecciones durante la preñez, pueden ocurrir abortos a repetición. Por otro lado, la neosporosis es una enfermedad causante de abortos en bovinos, que en los últimos años ha sido asociada a la ocurrencia de abortos en caprinos.

En Argentina se han realizados estudios serológicos en cabras para ambas enfermedades y bajo distintos sistemas de producción en las provincias de Buenos Aires, Córdoba y San Luis, como así también un estudio de neosporosis en cabras del departamento de Famatina de la provincia de La Rioja.

El objetivo de este trabajo fue detectar anticuerpos para *T. gondii* y *N. caninum* en cabras del departamento de Chamental de la provincia de La Rioja y determinar su relación con la presencia de abortos.

Materiales y Métodos

Se recolectaron 237 muestras de sueros caprinos pertenecientes a 16 productores de los parajes Los Bordos y Los Molles, Saladillo y Tala Verde, Esquina del Norte, San Antonio y Las Breas del Departamento de Chamental situado en la región de Los Llanos, provincia de La Rioja.

Todas las cabras eran seronegativas a brucelosis y pertenecían a pequeños productores que detectaron abortos en sus animales durante el año 2014. Del total de muestras 136 correspondieron a animales con antecedentes de aborto.

Los sueros obtenidos fueron diluidos 1:100 y 1:800, y se analizaron por la técnica de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) en el Laboratorio de Inmunoparasitología, FCV, UNLP, utilizando como antígenos portaobjetos con la cepa RH de *T. gondii* y Nc-1 de *N. caninum* y conjugado anti-Ig G de cabra comercial. Además en 154 cabras de 9 productores se realizaron dos muestreos pareados que se procesaron por IFI a título final.

Se analizó la asociación entre la presencia de anticuerpos y la presencia de abortos con la prueba chi cuadrado (X^2) (WinEpi).

Resultados

Se detectaron anticuerpos ($\geq 1:100$) anti-*T. gondii* y anti-*N. caninum* en el 22,4% (53/237) y en el 1,3% (3/237) de los animales muestreados, respectivamente. De las cabras seropositivas a *T. gondii*, el 69,8% (37/53) tenía antecedentes de abortos, con títulos de anticuerpos de 1:100 (81%) y 1:800 (19%) encontrando una asociación significativa entre la presencia de anticuerpos y la presencia de abortos ($p < 0.05$) (Tabla 1).

Para *N. caninum*, 2/3 de las cabras seropositivas con títulos $\geq 1:800$ tuvieron antecedentes de abortos (datos insuficientes para significancia estadística). El 68,7% (11/16) de los hatos analizados presentaron animales seropositivos para *T. gondii* y el 12,5% (2/16) para *N. caninum*.

No se observó seroconversión para ambas enfermedades entre los muestreos de los establecimientos comparados.

Tabla 1. Distribución de cabras con y sin abortos acorde a la presencia de anticuerpos anti- *T. gondii*.

	Positivos (+)	Negativos (-)	Total
Abortadas	37	99	136
No abortadas	16	85	101
Total	53	184	237



Discusión

En el presente trabajo se logró determinar la presencia de cabras seropositivas a *T. gondii* y *N. caninum* en cabras con antecedentes de abortos de la Región de Los Llanos, La Rioja. La presencia de anticuerpos anti- *T. gondii* y anti- *N. caninum* determinada en este estudio fue menor a la hallada en trabajos previos de nuestro grupo realizados en las provincias de Córdoba (33% y 4,2%) y Buenos Aires (63% y 9,7%) y similar a la observada en San Luis (19,8% y 2,1%). Las diferencias observadas podrían asociarse con las características de los tipos de explotación de cada región que podrían condicionar la factibilidad de infección. La presencia de anticuerpos anti- *N. caninum* fue menor en este estudio con respecto a los datos obtenidos por Moore y col. en La Rioja en el año 2007 el cual se realizó con animales procedentes de otro departamento ubicado al norte de la provincia.

Una alta proporción de productores (68,7%) presentaron animales seropositivos a toxoplasmosis en esta región. Además se encontró asociación entre animales seropositivos a *T. gondii* y los que presentaron abortos. A pesar de en la región estudiada el clima es seco y árido, los animales están confinados en corrales durante la noche y, por lo tanto, la concentración de orina y heces podría modificar las condiciones del entorno y crear una situación propicia para la supervivencia de oocistos. Durante el día, las cabras están pastando libremente en áreas comunes donde felinos, como el puma (*Felis concolor*) y el gato montés sudamericano (*Leopardus geoffroyi*) han sido avistados. El papel de los felinos salvajes en la toxoplasmosis aún no se ha estudiado en esta región.

Sólo 2 productores presentaron animales seropositivos a Neosporosis y no se determinó la asociación entre esta enfermedad y la presencia de abortos por el bajo número de animales seropositivos.

Sin embargo, 2 de 3 cabras con antecedentes de aborto presentaron títulos mayores a 1:800. Los resultados encontrados indican que al momento del muestreo *N. caninum* no sería un problema extendido en estos establecimientos a pesar de que la mayoría de los productores utilizan perros en sus actividades, y es frecuente que los perros convivan en los corrales con las cabras y caminen hasta los sitios de pastoreos con ellas para protegerlas de los depredadores.

Conclusiones

Futuros trabajos deberían realizarse para determinar si existe asociación entre los tipos de explotación y los animales seropositivos a ambas enfermedades en cada provincia. Por otro lado, debido al carácter zoonótico de la toxoplasmosis y de otras enfermedades que producen abortos en las cabras, consideramos necesario que los pequeños productores sean informados sobre los posibles factores de riesgo y capacitados en cómo reducirlos, por ejemplo: la manipulación y descarte de los abortos, la cocción correcta y la conservación de la carne y la leche y sus derivados, la implicación de felinos domésticos y silvestres en el área y el riesgo potencial de contaminación de oocistos del suelo y las fuentes de agua. Las medidas higiénicas para reducir estas enfermedades mejorarán su producción de subsistencia y aumentarán la oportunidad de obtener productos seguros.

Bibliografía

- Gos ML, Manazza JA, Moré G y col. 2012. Seroprevalence of toxoplasmosis and neosporosis in dairy goats from Buenos Aires, Argentina. *Apicomplexa in Farm Animals*.
- Manazza JA, Späth EAJ, Gos ML y col. 2012. Brucellosis, neosporosis, toxoplasmosis y paratuberculosis en caprinos para carne y leche en el noroeste de Córdoba. XIX Reunión Científica Técnica AAVLD.
- Gos ML, Delgado MG, Bonzo EB y col. 2014. Presencia de anticuerpos para *Toxoplasma gondii* y *Neospora caninum* en caprinos del departamento de Belgrano, provincia de San Luis, Argentina. XX Reunión Científica Técnica AAVLD.
- Gos ML, Manazza JA, Späth EJA y col. 2017. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in goats from two Argentinean provinces. *Open Veterinary Journal* 7(4): 319–322.
- Moore DP, de Yaniz MG, Odeón AC y col. 2007. Serological evidence of *Neospora caninum* infections in goats from La Rioja Province, Argentina. *Small Ruminant Research* 73, 256-258.

PRIMER CASO DE ABORTOS Y NATIMORTOS POR *Toxoplasma gondii* EN OVINOS DE ARGENTINA

Gual, I.¹⁻²; Giannitti, F.³⁻⁴; Hecker, Y.¹⁻²; Shivers, J.⁴; Entrocassi, A.⁵; Morrell, E.¹; Pardini, L.²⁻⁶; Fiorentino, M.¹; Rodríguez Fermepin, M.⁵; Unzaga, J.⁶; *Cantón, G.¹; Venturini, C.⁶; Moore, P.¹⁻²
¹INTA EEA Balcarce; ²CONICET; ³Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), Uruguay; ⁴University of Minnesota; ⁵UBA, Buenos Aires; ⁶UNLP, La Plata

Introducción

Toxoplasma gondii es un protozoo del filum Apicomplexa, de amplia distribución mundial, que infecta a una gran variedad de animales domésticos, silvestres y al hombre (zoonosis). Tiene un ciclo de vida indirecto, los félidos son hospedadores definitivos y los mamíferos y las aves son hospedadores intermediarios. Puede provocar aborto en ovinos, caprinos y humanos. Aunque existe evidencia serológica de su presencia en majadas ovinas en Argentina, no se han informado en la literatura científica casos de aborto ovino producidos por este agente en el país. El objetivo del presente trabajo es describir un caso de aborto y natimortos por *T. gondii* en ovinos de Argentina.

Materiales y Métodos

En septiembre del 2014 se registró un episodio de aborto en una cabaña de ovinos raza Texel ubicada en el Partido de Balcarce, Buenos Aires. La majada estaba conformada por 196 ovejas y 6 carneros, en un sistema de producción extensivo, con servicio estacionado entre el 15 de abril y el 15 de junio. Dos fetos mellizos abortados (1 y 2) y sueros de toda la majada fueron enviados al Servicio de Diagnóstico Veterinario Especializado del INTA Balcarce. Se recopilieron datos anamnésticos para calcular los índices reproductivos. Se realizó el examen post mortem de ambos fetos y se recolectaron muestras de tejidos, que fueron fijadas en formol tamponado al 10%, incluidas en parafina, seccionadas y teñidas con hematoxilina y eosina para su examen microscópico. Se realizó inmunohistoquímica (IHQ) en secciones de cerebro y corazón del feto 1 utilizando un anticuerpo primario anti-*T. gondii*. Se obtuvieron muestras de líquido de cavidad abdominal fetal (LC) para la detección de Acs contra *T. gondii* y *Neospora caninum*, mediante inmunofluorescencia indirecta (IFI). A partir del ADN extraído de las muestras de encéfalo de los fetos se realizó la PCR anidada para *T. gondii* (TOX5 y TOX8) y para *N. caninum* (primers NN1/NN2 y NP1/NP2). Además, se tomaron muestras de líquido abomasal (LA) en solución fisiológica tamponada formolada para inmunofluorescencia directa (IFD) para *Campylobacter fetus*. Improntas de bazo,

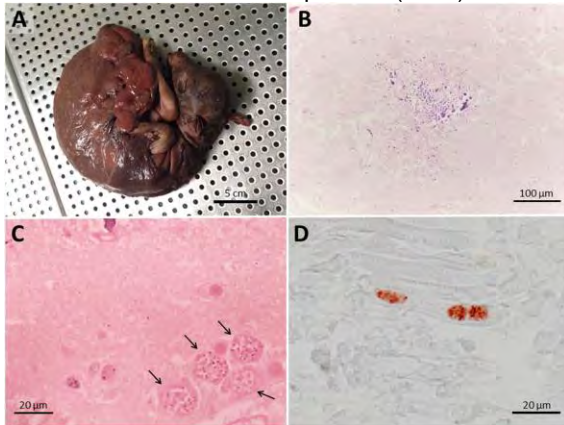
hígado, riñón y pulmón fijadas en acetona se analizaron por IFD para detección de *Leptospira* spp. Se cultivaron muestras de hígado, bazo, pulmón y LA en agar MacConkey y agar Columbia suplementado con sangre bovina al 7%, con incubación a 37°C durante 24 y 48 h en aerobiosis y en una atmósfera de 10% de CO₂, respectivamente. Adicionalmente un conjunto de estas muestras fue incubado en caldo de enriquecimiento tetratonato para el aislamiento de *Salmonella* spp., con repiques a placas de agar XLD, día por medio, durante 1 semana. Los sueros de toda la majada se analizaron por ELISA indirecto para detección de Acs contra *Brucella ovis*. Los sueros de las ovejas adultas que abortaron (15) y que perdieron sus crías en el periodo perinatal (9) se analizaron por IFI para *T. gondii* y *N. caninum*.

Resultados

Los porcentajes de preñez, parición y señalada fueron del 97% (190 ovejas), 111% (217 corderos, correspondientes a 175 partos) y 105%, respectivamente. Se registró una tasa de abortos del 7,9% y de muerte perinatal del 4,7% (13 corderos correspondientes a 9 ovejas); con una merma parto-señalada del 6%. Los fetos abortados remitidos al laboratorio, ambas hembras, tenían un moderado estado de momificación y un avanzado grado de autólisis. Los fetos 1 y 2 pesaron 0,75 y 1 kg. La edad gestacional estimada fue de 17-19 semanas. El feto 1 se encontraba envuelto en la placenta y a pesar de la avanzada autólisis, se observó encefalitis multifocal necrotizante con mineralización del neuroparénquima, presencia de quistes esféricos, de 15 µm de diámetro, en proximidad de estos focos y miocarditis multifocal. En el feto 2 se observó meningitis, pericarditis, neumonía intersticial y glositis intersticial moderadas. Por IHQ se detectaron taquizoítos de *T. gondii* en asociación con las lesiones cerebrales y miocárdicas del feto 1 y quistes intra-sarcoplasmáticos en cardiomiocitos. La IFI para *T. gondii* resultó positiva en el feto 1 (dilución 1/40), y negativa en el feto 2. La IFI para *N. caninum* (dilución 1/10) resultó negativa en ambos fetos. La madre de los fetos analizados resultó seropositiva para *T. gondii* (1/1600) y seronegativa para *N. caninum*. Se detectaron Acs anti-*T. gondii* en el 66,7% de las

ovejas que abortaron, con títulos que variaron entre 1/50 y 1/6400, y en el 44,4% de las ovejas que perdieron sus crías en el periodo perinatal, con títulos entre 1/200 y 1/1600. Todos los sueros analizados resultaron negativos a la IFI para *N. caninum* (dilución 1/50). Las PCR para *T. gondii* y *N. caninum*, las IFD para *C. fetus* y *Leptospira* y el cultivo de *Salmonella* spp. resultaron negativos. A partir de muestras de LA, pulmón e hígado del feto 1 y de LA del feto 2 se aisló *Yersinia pseudotuberculosis*. Seis ovejas resultaron seropositivas a *B. ovis*, de las cuales una había abortado. La majada estuvo en permanente contacto con 5 felinos domésticos.

Foto 1. (A) Feto ovino momificado y su placenta. (B) Foco de necrosis y mineralización rodeado de infiltrado mononuclear en el cerebro del feto abortado (H&E; 40×). (C) Quistes de protozoos (flechas) similares a *T. gondii* en el cerebro (H&E; 400×). (D) Quistes de *T. gondii* en el sarcoplasma de músculo estriado detectado por IHQ (400×).



Discusión

Los hallazgos patológicos en los fetos, los resultados de la serología fetal y materna, y la detección intralesional de *T. gondii* por IHQ en el feto 1 permiten confirmar que el aborto fue causado por este agente. Se presume que la PCR para *T. gondii* resultó negativa debido a la mala calidad del ADN extraído, que a su vez pudo haber sido causa del avanzado estado de autólisis de la muestra. Si bien *Y. pseudotuberculosis* puede causar abortos esporádicos en ovinos, las lesiones observadas en estos fetos no fueron compatibles con las descritas en la bibliografía para este agente, por lo tanto se consideró un contaminante.

Conclusiones

Hasta donde llega nuestro conocimiento, esta representa la primer descripción de un caso de aborto por *T. gondii* en ovinos en Argentina. Son necesarias investigaciones locales adicionales para conocer la prevalencia de abortos ovinos por este agente y la importancia de esta especie en la epidemiología de esta enfermedad zoonótica.

Bibliografía

- Dubey, J. 2009. Toxoplasmosis in sheep – the last 20 years. *Vet Parasit* 163:1-14.
- Hecker, Y.; Moore, D.; Manazza, J.; Unzaga, J.; Späth, E.; Pardini, L.; Venturini, C.; Roberi, J.; Campero, C. 2013. First report of seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dairy sheep from Humid Pampa, Argentina. *Trop Anim Health Prod* 45:1645–1647.

ABORTO OVINO POR *Brucella melitensis* EN UNA MAJADA MIXTA CON CAPRINOS EN SALTA, ARGENTINA

Gaido, A.¹; Micheloud, J.¹; Torioni de Echaide, S.²; Neder, V.²; Campero, C.³; Suárez, V.¹; Neumann, R.¹; Aguirre, D.¹

¹INTA – IIACS Leales/ EEA Salta; ²INTA EEA-Rafaela; ³INTA-EEA Balcarce

Introducción

La brucelosis por *Brucella melitensis* es una enfermedad infectocontagiosa de curso crónico, cuyos hospedadores principales son el caprino y el ovino. Este agente también puede infectar a otras especies animales y es responsable de una de las zoonosis más severas a nivel mundial. La provincia de Salta presenta un área endémica de *B. melitensis* en la región este. A fines de los años '70 se realizaron allí varios aislamientos de *B. melitensis* biovar (bv) 1 a partir de muestras de leche e hisopados vaginales de cabras. En dicha área es frecuente la producción extensiva de pequeños rumiantes (ovinos, caprinos) en rebaños mixtos. En este trabajo se describe un caso de aborto ovino producido por *B. melitensis* en una majada mixta de la región agroecológica Chaqueña de la provincia de Salta.

Materiales y Métodos

En abril de 2011 se recogió un feto ovino de una majada mixta ubicada en Las Barrancas (23°76'S, 63°25'O) cerca de La Unión, departamento Rivadavia, Salta. Se efectuó la necropsia del feto y se obtuvieron muestras de diferentes tejidos en recipientes estériles para cultivos microbiológicos y en formol bufferado al 10% para histopatología. Las muestras estériles se cultivaron en medio triptosa selectivo para *Brucella* spp. y se incubaron en microaerobiosis (10% de CO₂) y anaerobiosis. La tipificación de las colonias se realizó siguiendo las pruebas bioquímicas y de aglutinación con sueros monoespecíficos sugeridas por la OIE. Las muestras para histopatología fueron procesadas por las técnicas de rutina. Secciones de pulmón, bazo, hígado y placenta fueron procesados por la técnica de inmuno-histoquímica de avidin-biotina con un antisuero primario anti-*Brucella* (*Brucella abortus* antiserum cod 2871-47-7 Difco Lab., USA) siguiendo protocolos descritos previamente. Otras secciones de tejidos fueron utilizadas para la extracción de ADN, mediante el método de fenol/cloroformo/alcohol isoamílico (24:24:1). Para la caracterización molecular se analizó el polimorfismo genético del gen *omp2a-b*

mediante la prueba en cadena de la polimerasa (PCR) según Leal-Klevezas *et al.* Se obtuvo el aislamiento de una cepa, la cual fue tipificada en base a un fragmento estable IS711 con localización específica en el genoma de cada una de las especies de *Brucella*. Para este caso se utilizó AMOS-PCR (*abortus*, *melitensis-ovis* y *suis*). Los oligonucleótidos para identificar *B. abortus* y *B. suis* fueron excluidos. Se emplearon cepas de *B. melitensis* bv1 y *B. abortus* bv1 como controles positivos, siendo control negativo los reactivos pero sin ADN. También se obtuvieron muestras de sangre de todos los caprinos adultos de la majada (n = 168) y de algunos ovinos (n = 6, incluida la oveja abortada) para diagnóstico serológico de brucelosis. Los sueros se procesaron mediante la prueba de aglutinación en placa con antígeno tamponado (BPA) como tamiz y la fijación del complemento (FC) como prueba confirmatoria. Para la FC los resultados se expresaron en unidades internacionales (UI), considerando títulos > 20 UI FC como positivos.

Resultados

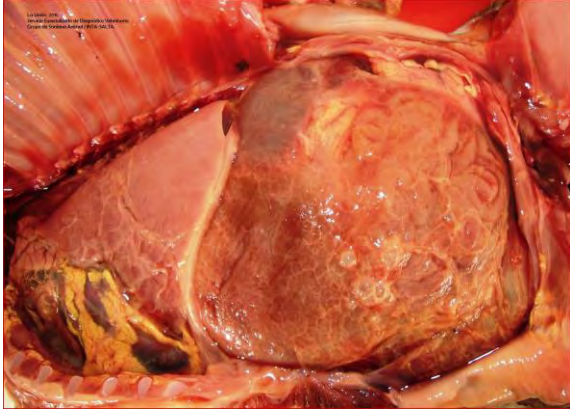
El feto ovino abortado midió 28 cm, estimándose para el mismo una edad gestacional de 4,5 meses (Foto 1).

Foto 1. Feto ovino al pie de su madre.



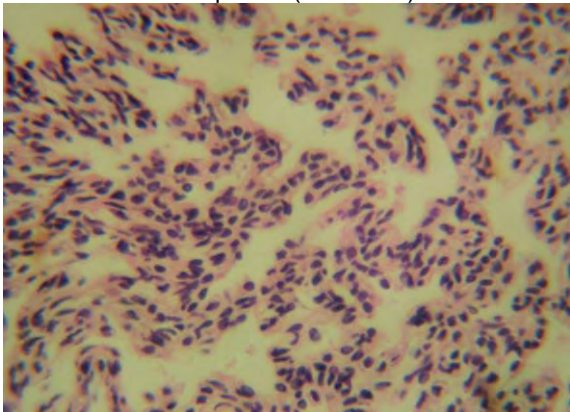
A la necropsia se observó hepatomegalia, esplenomegalia y poli-serositis fibrinosa (Foto 2).

Foto 2. Poliserositis fibrinosa generalizada.



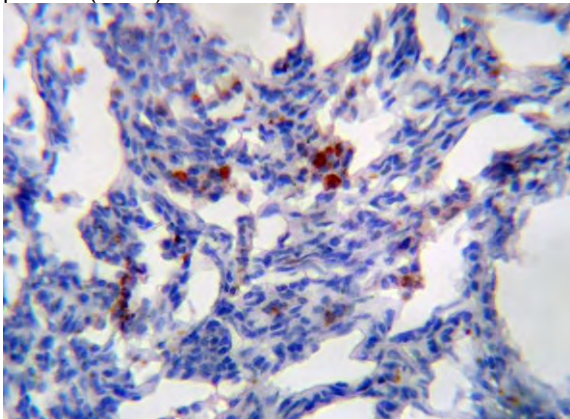
La histopatología reveló neumonía intersticial mononuclear y atelectasia alveolar parcial (Foto 3), esplenitis periarterial y placentitis difusa.

Foto 3. Neumonía intersticial mononuclear y atelectasia alveolar parcial (H-E 400 x).



El pulmón y la placenta resultaron con inmunomarcación positiva para el antígeno frente a *Brucella abortus* (Foto 4).

Foto 4. Inmunomarcación positiva a *Brucella* en pulmón (400 x).



En el medio de cultivo específico para *Brucella* crecieron colonias lisas, brillantes y translúcidas con forma redondeada y bordes regulares, partiendo de siembras provenientes de diversos órganos fetales (pulmón, abomaso e hígado). Mediante microscopía se observaron cocobacilos pequeños, Gram negativos, inmóviles. Las pruebas bioquímicas y de aglutinación con sueros mono-específicos permitieron confirmar el aislamiento de *B. melitensis* bv 1. La PCR amplificó fragmentos únicos de 827 pb esperados para el gen *omp2a-b* de *Brucella* spp. y mediante AMOS-PCR se amplificó el fragmento de 731 pb específico para *B. melitensis*. No se amplificaron fragmentos específicos para *B. ovis*. Se registró una prevalencia general de brucelosis de 68,4%, con prevalencias parciales de 69 % en los caprinos y de 50% en los ovinos. La oveja abortada fue serológicamente positiva a la FC a *Brucella* spp. con título de 1.323 UI.

Discusión

La anamnesis, los hallazgos anatomo-patológicos, las pruebas inmuno-histoquímicas, los aislamientos y pruebas bioquímicas y el diagnóstico molecular permitieron confirmar a *B. melitensis* bv 1 como causante del aborto. En relación con la inmuno-histoquímica aunque el anticuerpo empleado no era específico para *B. melitensis* demostró reactividad cruzada con *B. abortus* y probó la utilidad de la técnica para este caso. Según literatura disponible este diagnóstico representa el segundo registro de *B. melitensis* en ovinos de Argentina y el primer caso de aborto por dicho agente en ovinos de Salta. En esta provincia, como en otras áreas del país, la epidemiología de *B. melitensis* es mejor conocida en caprinos que en ovinos. No obstante, se detectan ovinos sero-reactores en zonas de Salta donde la infección es endémica. También en la provincia de Formosa se detectaron ovinos seropositivos para brucelosis, aunque con prevalencias individuales más bajas que para los caprinos: 1,4% versus 12,6%. El presente caso enfatiza la necesidad de ampliar los estudios para conocer la epidemiología de *B. melitensis* en ovinos que conviven con caprinos.

Bibliografía

- Ossola A.L., Szyfres B. and Blood B.D. 1963. Natural infection of sheep by *Brucella melitensis* in Argentina. Am. J. Vet. Res. 24: 446-449.
- Russo A.M., Mancebo O.A., Monzón C.M., Gait, J.J., Casco, R.D. y Torioni de Echaide, S. 2016. Epidemiología de la brucelosis caprina y ovina en la provincia de Formosa, Argentina. Rev. Arg. Microbiol. 48: 147-153

***Campylobacter fetus* subsp. *fetus* ASOCIADO A UN BROTE DE ABORTOS EN OVINOS**

Fiorentino, A.¹; Stazionati, M.²; Hecker, Y.¹⁻³; Morsella, C.¹; Cantón, G.¹; Romero Harry, H.²; Velilla, A.¹; Rodríguez Fermepin, M.⁴; Gallo Vaulet, L.⁴; Bedotti, D.²
¹INTA EEA Balcarce; ²INTA EEA Anguil; ³CONICET; ⁴Universidad de Buenos Aires

Introducción

La campylobacteriosis ovina (aborto epidémico de las ovejas) es causada por *Campylobacter fetus* subsp. *fetus* o *Campylobacter jejuni*. Ambas bacterias se caracterizan por causar abortos durante las últimas 8 semanas de gestación. *C. fetus fetus* es la mayor causa de abortos ovinos asociados a especies de *Campylobacter* en Australia y Nueva Zelanda, mientras que en Estados Unidos es *C. jejuni* la especie más prevalente. En Argentina si bien es considerada como una posible causa de abortos en los rebaños, no existen reportes de aislamientos a partir de fetos ovinos abortados. En el presente trabajo se describe el aislamiento de *C. fetus fetus* a partir de muestras de fetos ovinos y placenta provenientes de una majada con problemas de abortos.

Materiales y Métodos

En el mes de marzo del 2015 se recibieron en el laboratorio de bacteriología de la EEA INTA Balcarce 2 fetos ovinos mellizos abortados (oveja 1) y una placenta expulsada por otra (oveja 2) con antecedentes de abortos, de la cual no pudo recuperarse el feto. Todos los especímenes eran procedentes de un tambo ovino de la provincia de La Pampa con un total de 178 animales (113 en ordeño). En el momento del envío de las muestras se habían registrado un total de 7 abortos.

Durante la necropsia de los fetos abortados por la oveja 1 se tomaron muestras de diferentes tejidos y placenta para aislamiento y PCR de *Toxoplasma gondii*; *Neospora caninum* y *Chlamydiaceae*. Se obtuvieron además líquidos de cavidades de los fetos para inmunofluorescencia indirecta (IFI) para la detección de anticuerpos anti-*N. caninum* y anti-*T. gondii*.

Para la realización del análisis histopatológico las muestras se colocaron en formol tamponado al 10% y fueron procesadas siguiendo la rutina de trabajo del laboratorio de Patología Veterinaria de la EEA Balcarce.

Para cultivo bacteriológico las muestras se sembraron en placas con agar sangre Columbia con 7% de sangre bovina desfibrinada (ASC, 10% CO₂), con agar McConkey (MC, aerobiosis) y con agar Skirrow (5% O₂, 5-10% CO₂ y 85-90% H₂), durante 1, 2 y 7 días respectivamente, a 37°C. Se realizaron

las siguientes pruebas bioquímicas para la clasificación de las colonias sospechosas de *C. fetus*: producción de catalasa y SH² en medio Kigler, desarrollo en glicina a distintos porcentajes (1%; 1,3%; 1,5% y 1,9%), resistencia al CINA al 3,5%; crecimiento y reducción ante la presencia de selenito de Na (0,1%) en agar sangre; producción de SH² en medio sensitivo (0,02% de cisteína).

Los LC fetales se diluyeron 1:10 para la detección de anticuerpos anti-*N. caninum* y anti-*T. gondii* por IFI. Para la detección de *T. gondii* por PCR se utilizaron los primers Tox5-Tox8. Para la detección de *N. caninum* se utilizó la PCR anidada que amplifica la región ITS1 del ADN ribosomal. Se realizó una PCR *real time* para amplificar *Chlamydiaceae*.

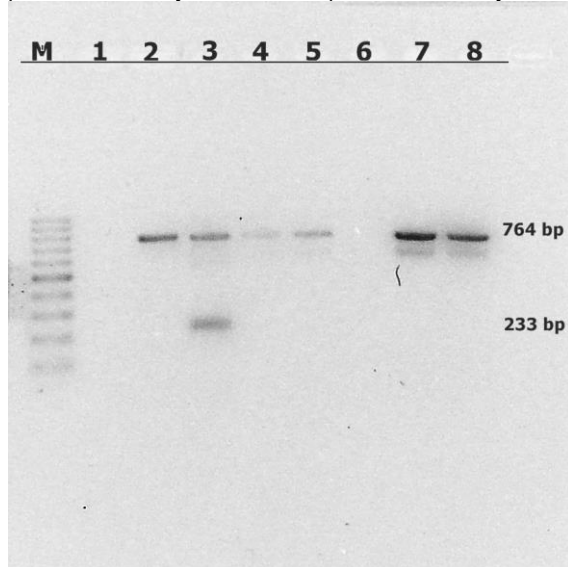
Resultados

A la necropsia los fetos de aproximadamente 9 semanas de gestación presentaron un estado inicial de momificación con un acentuado grado de deshidratación. El análisis histopatológico evidenció pericarditis no supurativa leve y bronconeumonía supurativa. Por otro lado, en la placenta se observó microscópicamente la presencia de edema en el espacio intercotiledonario y placentitis mixta difusa leve. De las muestras colectadas de pulmón e hígado de ambos fetos abortados (pulmón e hígado) y de la placenta se aisló *C. fetus fetus*. Las IFI para *T. gondii* y *N. caninum* tanto los LC de los fetos estudiados resultaron negativas. La PCR de los tejidos fetales y placentas de ambos fetos resultaron negativos para *T. gondii*, *N. caninum* y *Chlamydiaceae*. La placenta de la oveja 2 resultó positiva a la PCR para *N. caninum*.

Foto 1. Fetos ovinos abortados por *Campylobacter fetus fetus*, con momificación y autólisis.



Foto 2: Especiado de *Campylobacter* por PCR multiplex: primers MG3F/MG4F que amplifican una región de 764pb de *C. fetus fetus*, y C1165g4F/nC1165g4R que amplifican una región de 233pb solo presente en *C. fetus venerealis*. Línea M: marcador molecular de 100pb; línea 1: control negativo; línea 2: control de *C. fetus fetus*; línea 3: control de *C. fetus venerealis*; líneas 4-5: pulmones fetales; línea 6: placenta de oveja #2; línea 7: placenta de oveja #3; línea 8: placenta de oveja #3.



Discusión

El presente trabajo reporta el aislamiento de *C. fetus fetus* a partir de muestras de fetos ovinos abortados. Trabajos previos han reportado que tanto *C. fetus fetus* como *C. jejuni* causan abortos durante las últimas 8 semanas de gestación (abortos tardíos). En el presente trabajo los abortos se presentaron atípicamente en la etapa temprana de gestación y *C. fetus fetus* fue aislado de todas las muestras analizadas no habiendo evidencia de ningún otro agente causante de abortos, encontrando además lesiones microscópicas producidas por este agente infeccioso. Esta situación pudo haberse debido a una alta contaminación ambiental al inicio del brote lo que hizo que los animales estuviesen expuestos.

Por otro lado, en la placenta expulsada por la oveja 2 se aisló *C. fetus fetus* y se identificó ADN de *N. caninum* simultáneamente.

La neosporosis es una causa muy frecuente de aborto en bovinos aunque el rol de este agente como causal de abortos en ovinos es discutido. Sin embargo, la infección natural y el aborto asociado a *N. caninum* han sido reportados en esta especie. Sin embargo, ningún tejido fetal resultó positivo a la PCR para *N. caninum* y la serología de los LC de los fetos abortados.

En Argentina, son escasos los reportes de diagnóstico de abortos en ovinos, siendo la mayoría referentes a brucelosis. En el año 2013 nuestro grupo realizó un relevamiento serológico en seis establecimientos lecheros ovinos de la provincia de Buenos Aires, y halló un 3% de animales seropositivos a *N. caninum* y 4/6 establecimientos presentaron al menos 1 animal positivo. Lamentablemente, en el presente trabajo el suero de la madre de los fetos abortados no estuvo disponible para su análisis.

Conclusiones

El presente trabajo reporta por primera vez a *C. fetus fetus* como agente causal de abortos en el período temprano de la gestación en la especie ovina. Por otro lado, confirma la presencia de *N. caninum* en nuestras majadas. Más estudios deberían realizarse para poder conocer la implicancia real de estos agentes como causales de pérdidas en majadas de Argentina.

Bibliografía

- Hedstrom, O.; Sonn, R.; Lassen, E.; Hultgren, B.; Crisman, R.; Smith, B.; Snyder, S. 1987. Pathology of *Campylobacter jejuni* abortion in sheep. *Vet Pathol* 24:419-426.
- Sahin, O.; Plummer, P.; Jordan, D.; Sulaj, K.; Pereira, S.; Robbe-Austerman, S.; Wang, L.; Yaeger, M.; Hoffman, L.; Zhang, Q. 2008. Emergence of a tetracycline-resistant *Campylobacter jejuni* clone associated with outbreaks of ovine abortion in the United States. *J Clin Microbiol* 46:1663-1671.

LISTERIOSIS NEONATAL EN CORDERO: REPORTE DE UN CASO

Cantón, G.¹; Fiorentino, A.¹; Manes, J.¹; Scioli, V.¹; Maldonado, J.¹⁻²; Moore, P.¹⁻³; Morrell, E.¹
¹INTA EEA Balcarce; ²Universidad de Cuenca, Ecuador; ³CONICET

Introducción

La Listeriosis es una enfermedad provocada por *Listeria monocytogenes*, bacteria Gram-positiva, patógeno intracelular que puede vivir en un amplio rango de temperaturas (3°C a los 45°C) y de pH (5.6-9.6).

La listeriosis está relacionado principalmente con cuadros de encefalitis en rumiantes adultos, aunque se han descrito otros síndromes como infecciones uterinas, abortos en cualquier estado de la preñez, mielitis espinal, oftalmítis/uveítis, gastroenteritis, mastitis y enfermedad septicémica (listeriosis septicémica o visceral).

Ésta última corresponde a una septicemia aguda por *L. monocytogenes*, de poca frecuencia en los rumiantes pero es la forma más común cuando se presenta en los animales monogástricos. Este síndrome septicémico se limita a terneros y corderos recién nacidos.

Este trabajo reporta un caso de listeriosis neonatal en un cordero, diagnosticado en el Servicio de Diagnóstico Veterinario Especializado (SDVE) del INTA EEA Balcarce durante 2017.

Materiales y Métodos

El caso ocurrió en un cordero Texel de 7 días de edad de una majada del partido de Balcarce (37°48'21.0"S 58°17'38.9"O), provincia de Buenos Aires en agosto de 2017.

El cordero era mellizo y no se habían observado signos clínicos previos a su muerte. Las ovejas que estaban pariendo estaban sobre pastizales naturales.

Se recibió en el SDVE y se procedió a realizar la necropsia y toma de muestras de tejidos para estudios histopatológicos.

Además se realizó inmunohistoquímica (IHQ) para *L. monocytogenes* utilizando un anticuerpo policlonal (*Listeria* O, Difco, USA) y el kit EnVision system (Dako, USA).

Se cultivó hígado en aerobiosis en medio agar sangre Columbia a 37°C.

Resultados

Durante la necropsia se observaron ascites y múltiples áreas de necrosis de distribución miliar en hígado (de 1 a 5 mm de diámetro) (Foto 1).

Foto 1. Múltiples focos blanquecinos de diferente diámetro en el parénquima hepático del cordero.



Se detectaron coágulos de leche en el abomaso, escaso contenido intestinal y atrofia serosa del tejido adiposo pericárdico y perirrenal.

En el análisis histopatológico se corroboró severa hepatitis necrotizante mixta (Foto 2), encefalitis multifocal necrotizante severa (Foto 3), neumonía intersticial leve mixta y adrenalitis necrotizante focal. Se aisló *L. monocytogenes* en pureza del hígado (Foto 4), y se inmunomarcó la bacteria en muestras de cerebro e hígado utilizando IHQ (Foto 5).

Foto 2: Foco de necrosis hepática con una respuesta inflamatoria mixta (H&E).

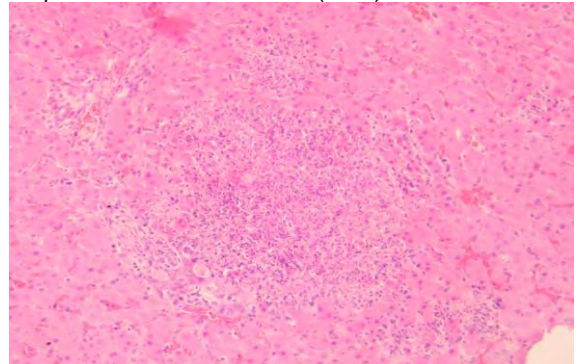


Foto 3. Múltiples focos de necrosis con una respuesta inflamatoria mixta en base cerebral (H&E).

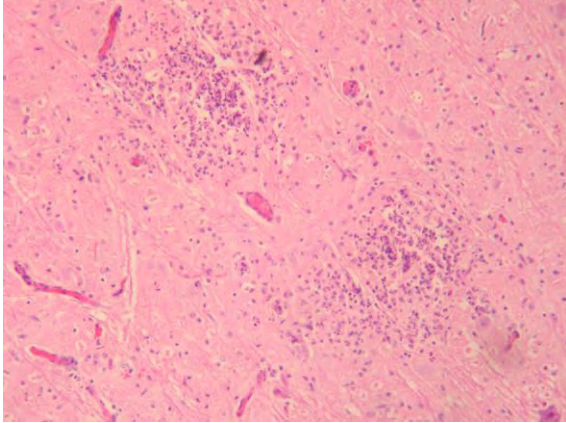
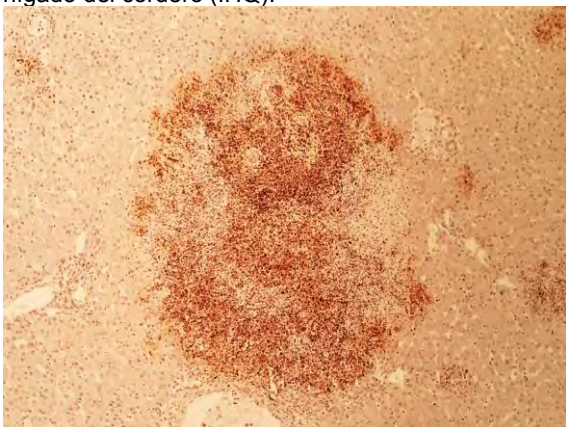


Foto 4. Colonias de *L. monocytogenes* en agar sangre aislada del hígado.



Foto 5. Inmunomarcaje de *L. monocytogenes* en el hígado del cordero (IHQ).



Discusión

Estos hallazgos confirmaron una infección septicémica por *L. monocytogenes* que explicaría la muerte de este cordero. *L. monocytogenes* es una bacteria responsable de severas infecciones en humanos y otras especies.

Aunque la infección en rumiantes está generalmente asociada con el consumo de silos mal conservados, animales sanos pueden ser reservorios, manteniendo la bacteria en su tracto gastrointestinal y eliminándola en heces. Algunos aspectos epidemiológicos de esta infección se desconocen.

En Argentina se han reportado las formas de encefalitis, digestiva y reproductiva (abortos) por este agente en bovinos. Sin embargo, para nuestro conocimiento, esta forma clínica no ha sido previamente reportada en corderos, posiblemente permaneciendo subdiagnosticada.

Bibliografía

- Campero, C; Odeón, A; Cipolla, A; Moore, P; Poso, M; Odriozola, E. 2002. Demonstration of *Listeria monocytogenes* by immunohistochemistry in formalin-fixed brain tissues from natural cases of ovine and bovine encephalitis. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health* 49(8):379-83
- Cooper, J; Walker, R. 1998. Microbial Food Borne Pathogens: Listeriosis. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 14(1): 113-125.
- Ryser, E; Marth, E. 1991. Listeriosis in Animals. *Listeria, Listeriosis, & Food Safety*. Marcel Dekker. New York, NY 33-43.

AISLAMIENTO DE *Escherichia coli* VEROTOXIGÉNICA A PARTIR DE OVEJAS CON VAGINITIS

Moreira, A.R.¹; Louge Uriarte, E.L.¹; Fiorentino, M.A.¹; Manes, J.²; González Pasayo, R.¹

¹Grupo de Sanidad Animal, INTA Balcarce; ² Grupo de Biotecnología de la Reproducción, INTA Balcarce

Introducción

La inseminación artificial es una herramienta ampliamente utilizada en programas de mejoramiento genético de los sistemas de producción animal. En la actualidad, su empleo está asociado con la sincronización de celos, que en el caso de los ovinos se logra mediante el uso de dispositivos intravaginales impregnados con progestágenos. Sin embargo, la fertilidad obtenida en ovejas inseminadas luego de la sincronización de celos con progesterona o progestágenos es más baja que la de una ovulación espontánea, lo que parece tener un origen multicausal.

La inserción de dispositivos intravaginales en ovejas múltiparas induce alteraciones en la composición de la flora normal de la vagina. Previo a la colocación de los dispositivos, las bacterias Gram positivas predominan en la flora normal de las vaginas de ovejas y cabras. Los géneros bacterianos más importantes incluyen *Bacillus* spp. y *Staphylococcus* spp. (Manes *et al.*, 2010). Luego del retiro de los dispositivos se presenta un cambio en la flora bacteriana, el cual consiste en un reemplazo de las bacterias Gram positivas por Gram negativas. En este último grupo predominan las enterobacterias, siendo *Escherichia coli* y *Klebsiella* spp. las aisladas con mayor frecuencia (Suarez *et al.*, 2006; Manes *et al.*, 2010, Martins *et al.*, 2010). Además, existe un incremento en la flora bacteriana vaginal, alcanzando su nivel máximo el 6to día post inserción del dispositivo. Entre los días 6 y 11 no se muestran cambios cuantitativos (Suárez *et al.*, 2006).

Escherichia coli es la especie dominante de la micropoblación normal aerobia y anaerobia facultativa del intestino en la mayor parte de los mamíferos. Es eliminada al exterior por las heces y se puede encontrar en el medio ambiente por su capacidad de sobrevivir en el agua y los alimentos. Algunas cepas de *E. coli* son patógenas y pueden producir infecciones entéricas o extraintestinales (infecciones del tracto urinario, bacteriemias o septicemias, meningitis, peritonitis, mastitis e infecciones pulmonares y de heridas). En este sentido, existe muy poca información con respecto a las características patógenas de *E. coli* asociadas a desórdenes reproductivos en ovejas. En este contexto, se realizó el presente estudio con el objetivo de caracterizar los genes de virulencia, la

resistencia antibiótica y los grupos filogenéticos en cepas de *E. coli* asociadas a vaginitis en ovejas. La importancia de identificar filogrupos de las cepas de *E. coli* nos permite ubicar las mismas en: comensales y patógenas; así como la identificación de la presencia de integrasas relacionadas con la resistencia antibiótica.

Materiales y Métodos

Seis cepas de *E. coli* fueron aisladas a partir de 6 ovejas con vaginitis pos sincronización de celo con esponjas impregnadas en acetato de medroxiprogesterona. Dichas cepas fueron clasificadas utilizando el kit API20E (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France), siguiendo las especificaciones del fabricante. Posteriormente, se utilizó la aplicación API Lab1 (versión 2.1) para comparar los perfiles de reacción con la base de datos, identificándose los aislamientos como *E. coli* y conservadas -80°C hasta sus estudios moleculares. Los genes de virulencia de *E. coli* fueron evaluados en aislamientos sembrados en agar tripteína de soja. La extracción de ADN se realizó por ebullición (100°C por 5 min.) y los lisados se centrifugaron (11000 rpm durante 2 min.) para obtener los sobrenadantes. Mediante la técnica de PCR simple se analizaron un total de 17 genes de virulencia: eae (intimina), vt 1 y vt 2 (verotoxina tipo 1 y 2), Ehly (enterohemolisina), f17G (F17), iucD (aerobactina), papC (Pap), hlyA (α hemolisina), afaE-8 (AFA-VIII), cdt (toxina de distensión citoletal), clpG (CS31A), cnf (CNF, factor citotóxico necrotizante), sta (STa, toxina termostable, variante a), stb (toxina termoestable, variante b), eltA (LT, toxina termolábil), f5 (F5 o K99) y f41 (F41).

Se realizó la prueba de sensibilidad a diferentes antibióticos de uso veterinario y humano. Se utilizó el método de difusión con monodiscos de Kirby Bauer, siguiendo las indicaciones del CLSI.

Los grupos filogenéticos de *E. coli* se determinaron utilizando un protocolo de PCR cuádruplex que permite asignar los diferentes grupos (A, B1, B2, C, D, E y F) (Clermont *et al.*, 2013). La detección de los genes de integrasas Clase 1 (intl1) y 2 (intl2) fueron determinados mediante primers específicos descritos por Orman *et al.*, 2002.

Resultados

Sólo 2 (O35 y O36) de los 6 aislamientos aquí evaluados presentaron genes de virulencia correspondientes al patotipo *E. coli* Verotoxigénico (VTEC). Los perfiles de genes virulencia fueron vt1+, vt2+, Ehly+ para la cepa O36 y vt2+ para la cepa O36. El análisis de los grupos filogenéticos (Fig. 1) determinó que la cepa O35 pertenece a los filogrupos D o E y la cepa O36 puede incluirse en el filogrupo B1. La búsqueda de secuencias del gen de integrasa Clase 1 y 2 mediante PCR, permitió detectar sólo un producto de 1000 pb aprox. con los *primers* internos del gen *intl2* en la cepa O36 y no se detectó producto en la cepa O35. Ambas cepas presentaron resultado negativo para el gen *intl1*.

Las dos cepas fueron sensibles a ácido nalidíxico, amikacina, cefquinoma, cefotaxima, cefalonio, cloranfenicol, colistina, doxicilina, enrofloxacin, estreptomycin, florfenicol, gentamicina, norfloxacin, ofloxacin, penicilina G, cefepime, sulfonamidas, tetraciclina, sulfametoxazol + trimetoprima, aztreonam, ceftazidima, imipenem, piperacilina/tazobactama; resistentes a amoxicilina, amoxicilina + ácido clavulánico, ampicilina, bacitracina, cefaclor, cefalexina, cefalotina, cloxacilina, eritromicina, kanamicina, neomicina, polimixina B, rifampicina, tilmicosina, vancomicina. Mientras que O35 fue sensible a fosfomicina, oxitetraciclina y la O36 fue resistente a los últimos dos antibióticos mencionados.

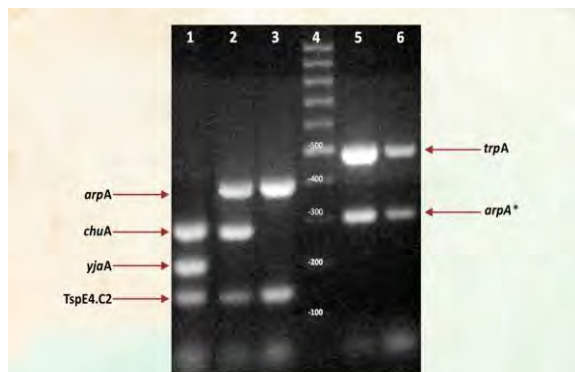


Fig. 1. Perfiles de PCR de los filogrupos de *E. coli*. Cada combinación de los productos de los genes *arpA*, *yjaA* y *TspE4.C2* permite la determinación del filogrupo en cada cepa. Calle 1, cepa *E. coli* ATCC 25922(+++, control); calle 2 y 3, muestras O35 (+++) y O36 (+-+), resp.; calle 4, marcador de peso molecular 100 pb. El perfil (-+++) de la muestra O35 es compartido entre los filogrupos D/E y requiere otro PCR con 2 pares de primers alelos específicos para los genes *trpA* y *arpA**. Calle 5, muestra O35 (++); calle 6 cepa *E. coli* EDL 933 (++, control). El perfil (++) determina filogrupo E.

Discusión

El patotipo VTEC presente en los dos aislamientos donde se detectaron las toxinas vt1+, vt2+, Ehly+ ha sido citado como causa de vaginitis, placentitis y abortos en ovinos (Sargison *et al.*, 2013). La afiliación filogenética permite predecir la mayor o menor

patogenicidad de las cepas aquí estudiadas respecto a las conocidas en análisis previos. Los filogrupos A y B1 incluyen cepas comensales o patógenas con menor número de genes de virulencia, mientras que los filogrupos B2, D y E incluyen cepas patógenas con mayor número de genes de virulencia e extraintestinales. Los resultados obtenidos con la cepa O35 (D o E) y O36 (B1) coincide con las características mencionadas.

La multiresistencia observada en las cepas estudiadas permite la búsqueda de integrones como posibles responsables de la misma. La detección de un amplicón *intl2* en la cepa O36 es el primer paso en la caracterización de los genes de resistencia presentes en el integrón. Al realizar la inseminación artificial en las ovejas el semen es depositado en el fondo de vagina. Los efectos de *E. coli* sobre diferentes parámetros de calidad espermática han sido estudiados de manera extensa en humanos y en algunas especies animales. En ovinos, Flores (2014) ha determinado que *E. coli* aisladas de vaginitis son capaces de alterar los parámetros de calidad espermática *in vitro*. Sin embargo en este trabajo se utilizó un pool de cepas causantes de vaginitis, futuros trabajos deberían ser orientados a trabajar con cepas previamente caracterizadas genéticamente.

Conclusiones

En el presente trabajo se logró por primera vez caracterizar molecularmente en Argentina cepas de *E. coli* aisladas de vaginitis en ovinos. La realización de futuros trabajos permitirá la caracterización de mayor número de cepas de *E. coli* aisladas de casos de vaginitis y, posteriormente, la implicancia de los diferentes patotipos en diferentes patologías reproductivas de la especie. Así también como las implicancias en la salud animal y pública de las multiresistencia a los antibióticos aquí hallada.

Bibliografía

- Manes, J. *et al.*, 2010. Changes in the aerobic vaginal flora after treatment with different intravaginal devices in ewes. *Small Ruminant Research* 94: 201–204.
- Clermont, O. *et al.*, 2013. The Clermont *Escherichia coli* phylo-typing method revisited: improvement of specificity and detection of new phylo-groups. *Environ Microbiol Reports* 5:58-65.
- Flores Olivares C.A. 2014. Efectos de *Escherichia coli* aislada de casos de vaginitis sobre calidad espermática en ovinos. Tesis de Grado. Universidad Mayor, Chile.
- Orman, B. E. *et al.*, 2002. Evolution of Multiresistance in Nontyphoid *Salmonella* Serovars from 1984 to 1998 in Argentina. *Antimicrob Agents Chemother.* 46:3963–3970.

EFFECTOS DE *Escherichia coli* AISLADA DE CASOS DE VAGINITIS SOBRE CALIDAD ESPERMÁTICA EN OVINOS

Flores, C.¹; Fiorentino, M.A.²; Cano, A.³; Louge, Enrique²; Moreira, A.R.²; Ramírez-Vasquez, R.⁴; Manes, J.⁴
¹Univ. Mayor de Chile; ²Grupo de Sanidad Animal, INTA Balcarce; ³Departamento de Producción Animal, INTA Balcarce; ⁴Biología de la Reproducción, INTA Balcarce

Introducción

La inseminación artificial es una herramienta ampliamente utilizada en programas de mejoramiento genético de los sistemas de producción animal. En la actualidad, su empleo está asociado con la sincronización de celos, que en el caso de los ovinos se logra mediante el uso de dispositivos intravaginales impregnados con progestágenos (Abecia *et al.*, 2012). Sin embargo, la fertilidad obtenida en ovejas inseminadas luego de la sincronización de celos con progesterona o progestágenos es más baja que la de una ovulación espontánea, lo que parece tener un origen multicausal.

En ovejas multíparas, la inserción de dispositivos intravaginales (esponjas o dispositivos de silicona) induce alteraciones en la composición de la flora vaginal normal. Estas alteraciones se caracterizan por cambios en la flora vaginal normal que pasan de flora Gram positiva (normal) hacia una prevalencia de la flora Gram negativa con predominio de enterobacterias (Manes *et al.*, 2010). Estas modificaciones en la biota bacteriana podrían ser atribuidas a cambios en el medio ambiente vaginal generados por la presencia de los dispositivos que favorecerían el desarrollo de enterobacterias oportunistas.

E. coli es la bacteria aislada con mayor frecuencia en casos de vaginitis provocadas por esponjas intravaginales para sincronización de celos en ovinos. El efecto de *E. coli* sobre la supervivencia espermática en el hombre ha sido estudiada extensamente (Diemer *et al.*, 2000; Villegas *et al.*, 2005), sin embargo, son escasos los trabajos en animales.

El objetivo de este trabajo fue determinar las alteraciones *in vitro* que se producen en diferentes parámetros de calidad en ESPZ de carneros coincubados con distintas concentraciones de cepas de *E. coli* aisladas de ovejas con vaginitis producidas como consecuencia del uso de esponjas intravaginales.

Materiales y Métodos

Se utilizaron eyaculados de 15 carneros adultos de raza Texel, con buena condición corporal y de fertilidad comprobada. Los eyaculados con movilidad masal microscópica (MMM) ≥ 4 en una escala de 0 a 5 fueron seleccionados y divididos en cuatro alícuotas con una concentración espermática de 400 x

10^6 espermatozoides (ESPZ)/mL para luego ser incubados con concentraciones crecientes de *E. coli* en un medio PBS (10^6 UFC/mL, 10^7 UFC/mL y 10^8 UFC/mL). La alícuota restante permaneció como grupo control sin bacterias. Las evaluaciones se realizaron a 37°C en tres tiempos: 0,5 h, 1,5 h y 2,5 h. Se evaluó: motilidad espermática total (MET), motilidad rectilínea progresiva (MRP), integridad de la membrana, funcionalidad de la membrana, integridad acrosomal y porcentaje de ESPZ en proceso de apoptosis.

Resultados

Se logró determinar que *E. coli* afecta negativamente la calidad espermática en ovinos, afectando las 6 variables estudiadas. Las variables MET (Figura 1) y MRP (Figura 2) presentaron una interacción entre las distintas concentraciones bacterianas y el efecto del tiempo. Mediante la prueba de Eosina Nigrosina se evaluó el porcentaje de ESPZ con membrana plasmática íntegra (Figura 3 y 4). No se observó efecto significativo ($P=0,58$) de la interacción entre los tiempos de incubación y las concentraciones bacterianas. Se observó que todas las concentraciones evaluadas afectaron de manera significativa ($P<0,05$) la integridad de la membrana. Al evaluar el efecto del tiempo de forma individual demostramos existencia de diferencia estadística entre todos los tiempos evaluados ($P<0,05$). En el caso de los ESPZ en proceso de apoptosis se determinó la existencia de diferencias significativas desde las coincubaciones sobre 10^6 UFC/mL de esta bacteria.

Figura 1. Porcentaje de espermatozoides con motilidad espermática total (MET), (media y DS) luego de 0,5; 1,5 y 2,5 horas de incubación a 37°C con diferentes concentraciones de *E. coli* en un mismo tiempo.

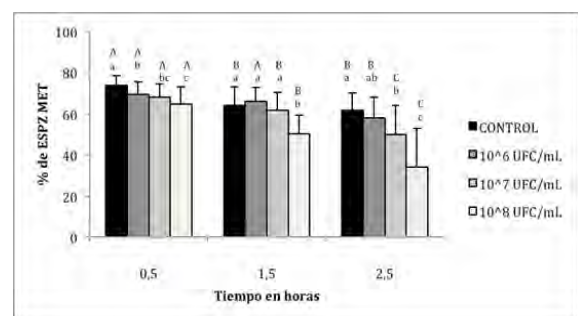


Figura 2. Porcentaje de espermatozoides (ESPZ) con movimiento rectilíneo progresivo (MRP) (media y DS) luego de 0,5; 1,5 y 2,5 horas de incubación a 37°C con diferentes concentraciones de *E. coli*.

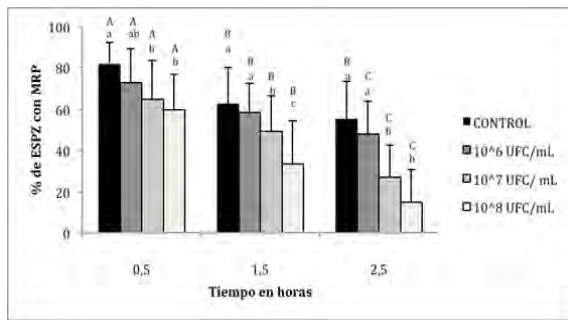


Figura 3. Porcentaje de espermatozoides (ESPZ) con membrana íntegra (media y DS) luego de 0,5; 1,5 y 2,5 horas de incubación a 37°C con diferentes concentraciones de *E. coli*. Letras distintas A, B, C indican diferencias estadísticas ($P < 0,05$) entre tiempos en la misma concentración.

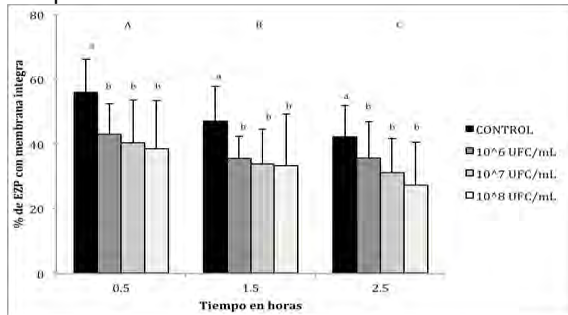
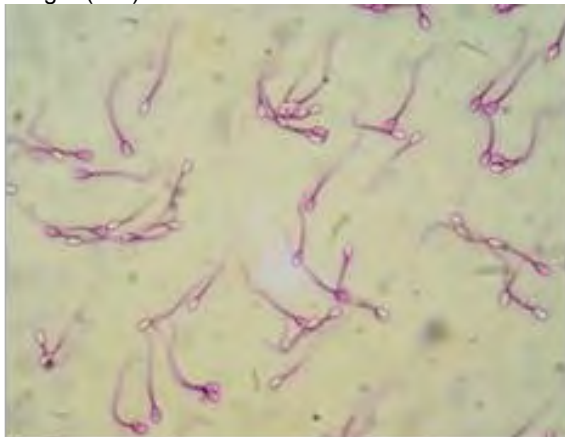


Figura 4. Determinación de la integridad de la membrana en ESPZ ovinos mediante la técnica de Eosina Nigrosina. Los ESPZ con cabeza teñida de rosa (total o parcialmente) indican membrana alterada, mientras que los que se presentan con la cabeza sin colorear se consideran con su membrana íntegra (40x).



Discusión

En estudios previos de nuestro grupo de trabajo *E. coli* ha sido la bacteria hallada con mayor frecuencia en ovejas con vaginitis producto del uso de dispositivos intravaginales. Como se dijo anteriormente, son escasos los trabajos en los cuales se estudió el efecto de la contaminación bacteriana sobre la calidad

seminal de ovinos. La mayoría de los trabajos existentes (tanto en humanos como en animales) focalizan la posible contribución de la bacteria a la subfertilidad centrándose en el macho como fuente de contaminación del semen, relacionando la presencia de *E. coli* con contaminaciones ocurridas durante los procesos de extracción y conservación de semen. Sin embargo, bajo las condiciones de nuestro ensayo se pudo demostrar que cepas de *E. coli* aisladas de ovejas con vaginitis tienen la capacidad de producir alteraciones en los parámetros de calidad espermática, estando estas alteraciones directamente relacionadas con la capacidad fecundante de los ESPZ. Al respecto, diferencias significativas entre el grupo control y las muestras de semen coincubadas con *E. coli* fueron encontradas en todas las variables estudiadas (MET, MRP, integridad de membrana, funcionalidad de membrana, integridad acrosomal y porcentaje de ESPZ en proceso de apoptosis), estas diferencias estuvieron en la mayoría de los casos relacionadas con la concentración de bacterias utilizadas y existiendo además, en algunos casos, una interacción entre el tiempo y la concentración bacteriana utilizada.

La disminución observada en la MRP sería producto de la adhesión de *E. coli* a los ESPZ. Varios autores han demostrado la capacidad de *E. coli* de unirse a la membrana espermática y producir cambios ultra estructuralmente a nivel de la pieza media, la membrana plasmática y el acrosoma. El MRP es fundamental para la fecundación, ya que este movimiento de avance permite a los ESPZ llegar en pocos minutos a las trompas uterinas, por lo que es un valor indicativo de fertilidad.

Conclusión

Los resultados aquí obtenidos indican una disminución de la capacidad fecundante de los ESPZ al ser coincubados con altas concentraciones de *E. coli*.

Bibliografía

- Abecia *et al.*, 2012. Hormonal control of reproduction in small ruminants. Anim Reprod Sci. 2012; 130, 173-9
- Manes *et al.*, 2010. Changes in the aerobic vaginal flora after treatment with different intravaginal devices in ewes. Small Ruminant Res. 2010;(94), 201- 4.
- Diemer *et al.*, 2010. Influence of urogenital infection on sperm function. Curr Opin Urol. 2000;10(1):39-44.
- Villegas *et al.*, 2005. Bacteria induce expression of apoptosis in human spermatozoa. Springer Science. 2005;10:105-10.

ESTRATEGIA DE INTERVENCIÓN COMUNITARIA: ABORDAJE DEL ABORTO EN SISTEMAS DE PRODUCCIÓN CAPRINA DE LA RIOJA

Cabral Ortíz, D.A.¹; Méndez, C.R.^{1,2}; Vera, T.A.²; Brunello, G.¹; Aguilera, N.¹
¹INTA EEA La Rioja, Chamental; ²IPAF NOA. Posta de Hornillos. Jujuy

Introducción

En Los Llanos de La Rioja (LLLR), las cabras ante la precariedad o ausencia de alambrados en los predios pastan en tierras que exceden los límites de sus propietarios mezclándose con otras majadas, otorgándole al sistema un uso particular de la tierra para el pastoreo. Esta forma de organización y de producción plantea retos cuando se afrontan problemas sanitarios caprinos, que no pueden ser abordados únicamente bajo una lógica intrapredial, como por ejemplo: el aborto en cabras. Por otra parte, se define a una unidad epidemiológica (UE) como "...un grupo de animales que tienen una determinada relación epidemiológica...la misma posibilidad de exposición a un agente patógeno, sea porque comparten el mismo espacio (un corral por ej.), sea porque pertenecen a una misma explotación..." (OIE 2010). En este sistema, existen diversos elementos que complejizan las relaciones epidemiológicas entre majadas y por ende, las estrategias de control y prevención de enfermedades caprinas. El objetivo del presente ensayo es exponer los elementos que complejizan las relaciones epidemiológicas y discutir una metodología para el abordaje del problema del aborto según la forma en que se organiza la producción en sistemas caprinos en LLLR.

Materiales y Métodos

-Condiciones Agroecológicas: La mitad sur de la provincia se conoce como LLLR y corresponde por sus características fitogeográficas y climáticas al Chaco Árido Argentino. El 80% de las precipitaciones ocurren entre noviembre y marzo, disminuyen de E a O de 400 a 150 mm/año, con alta variabilidad intra e interanual. La vegetación es de tipo xerófila y se distribuye en tres estratos: arbóreo aislado, arbustivo continuo y herbáceo discontinuo representado por gramíneas (Morello 1986). -Sistema de producción caprino: En La Rioja existen 6.736 explotaciones agropecuarias (EAP's) pertenecientes a pequeños productores (PP), ocupando 672.621 ha (22% de la superficie de producción). LLLR concentran el 84% de las existencias caprinas (192.324 cabezas) y el 91% de las bovinas (237.930 animales) de la provincia. Distribuidas en 3.152 EAP's (54% con límite definido - CNA, 2002). Los caprinos son explotados por PP, con características

propias como son: un bajo nivel de inversión en infraestructura predial y escasa adopción de tecnología de proceso, directamente relacionado a las condiciones de acceso a la tierra (ocupante, posesión veinteañal, títulos imperfectos y menos de mil has) y al agua (represa comunal o individual). El Monte nativo es el principal recurso forrajero en explotaciones extensivas, con pastoreo diurno sin pastor y encierre nocturno en corral, en épocas críticas (invierno-primavera) se suplementa con maíz. Los servicios son continuos (no se separan sexos o categorías) sin embargo se estacionan naturalmente (diciembre a julio). En los "llanos" y en la "sierra", ante alambrados perimetrales precarios o la mínima existencia de ellos (respectivamente), las cabras pastan en campos de sus propietarios y de distintos dueños, haciendo uso de la tierra como un gran campo comunitario, otorgándole al sistema caprino una particular organización para el pastoreo que no generaría conflictos entre vecinos de este tipo social agrario. Existe especial empeño por la sanidad caprina y resulta común la consulta a veterinarios sobre tratamientos a enfermedades reconocidas por productores. La principal consulta es el aborto caprino. -Causas de Aborto Caprino: En primer lugar, debemos señalar que los caprinos poseen un mecanismo evolutivo, adaptativo y protector, que se desencadena cuando gestando, la vida de la madre está en peligro. Se produce desde el día 101 y hasta fines de la gestación, cuando la placenta se vuelve receptiva a la acción del cortisol en condiciones de estrés, debido al aumento progresivo de receptores a esteroides y la merma de receptores a progesterona (López *et al.*, 2012). En segundo lugar, las causas infecciosas de aborto en caprinos, son entre otras: Clamidirosis, Toxoplasmosis, Campilobacteriosis, Mycoplasmosis, Leptospirosis y Brucelosis. Estas reducen los índices productivos e impactan negativamente en la salud de las familias rurales, pues son zoonóticas. -Epidemiología en sistemas de producción caprina: Partiendo de la definición de UE expresada anteriormente, creemos necesario, en nuestro sistema, abordar el aborto caprino desde varias dimensiones: las enfermedades, sus epidemiologías, las formas de organización social y productiva, y otros elementos que complejizan definir la UE en el sistema, estos son: a.- Sitio común de

pastoreo: como fue descrito anteriormente. b.- Distancia entre corrales: La cercanía entre corrales toma relevancia durante la reproducción, ya que los PP declaran que chivos de diferentes corrales conforman grupos “sexualmente activos” que se establecen algunos días en un corral para dar servicio a las hembras en celo, para luego continuar de igual forma en corrales vecinos. c.- Extravíos de caprinos: Es común que en épocas ventosas del año, grupos de cabras de la majada se “extravía” y se integran a otra majada. Habitualmente, el dueño las recupera gracias a la organización de este tipo social agrario. Abordando las múltiples dimensiones enunciadas, entendemos que la UE debe trascender el enfoque intrapredial, adaptarse al espacio y condiciones reales de producción, y de esta forma contener las relaciones epidemiológicas que el sistema plantea. Nueva Estrategia de abordaje: Metodología de intervención de tipo comunitaria: Se entiende como Intervención Comunitaria (IC) al conjunto de acciones destinadas a promover el desarrollo de una comunidad a través de la participación activa de ésta en la transformación de su propia realidad, capacitándola, fortaleciéndola, favoreciendo su autogestión. Una comunidad con capacidad de decisión y de acción, se fortalece como espacio preventivo (INDES, 2000). El proceso de IC debe ser integral (ya que enfrenta causas y efectos) y dinámico; pues los pasos se dan en forma simultánea, secuencial e interrelacionada. La condición es que ocurra en un espacio físico-social concreto (sector foco). En él, los sujetos participan activamente en la transformación de su realidad, a partir de sus problemas concretos (Asun, 1993). En este marco, el abordaje del aborto caprino requiere una intervención que recupere y ponga en acción las características citadas, pues se procura promover procesos de transformación de la realidad a través de la toma de conciencia de los sujetos involucrados, de problemas comunes y sus soluciones. Esta estrategia nos asegura sensibilización sobre la problemática, lo que redundaría, entre otras en: involucramiento y participación de la comunidad en talleres, capacitaciones, acuerdos y acciones consensuadas, la gestión de actividades y compromisos, la relación con otras instituciones y las estrategias de control y vigilancia necesarias. Para garantizar que los productores participen activamente en la propuesta de trabajo y el programa de

acciones, es necesario desarrollar estrategias sociales que generen compromisos e involucren a todos (acercamiento desde los vecinos, desde las instituciones, etc.), además de llevar actas y registros escritos de los acuerdos logrados durante las reuniones. No pretendemos detallar las actividades, pero teniendo en cuenta que algunas enfermedades son zoonóticas y que el sacrificio de cabras es una posibilidad sanitaria, siendo esta una medida sanitaria desalentadora de la producción, resultaría conveniente discutir y acordar con la comunidad una estrategia para reponer animales. Contemplar la vinculación a frigoríficos caprinos, buscar fuentes de financiamiento o que la propia comunidad aporte animales para la reposición, son alguna de ellas. Con los resultados e identificadas las enfermedades, se discutirán las medidas de prevención, de control y la estrategia de reposición con el consenso mayoritario. Todas las acciones requerirán recursos materiales, económicos y humanos. De allí la importancia del trabajo junto a otras organizaciones civiles, distintos actores del territorio y programas gubernamentales involucrados en la temática.

Conclusiones

La organización social y productiva caprina de LLLR admite un abordaje participativo y comunitario para el tratamiento de problemáticas sanitarias, ya que el control y vigilancia epidemiológica no puede realizarse solamente a nivel predial. Fortalecer la comunidad, sus lazos de confianza respetando los compromisos, permitirá llevar a cabo las acciones necesarias. Es preciso el trabajo conjunto con otras instituciones relacionadas con la producción caprina, la sanidad animal y la salud humana.

Bibliografía

- Asun, D. 1993. “Psicología Comunitaria y Salud Mental en Chile” Chile, Ed. Diego.
- CNA (2002). INDEC.
- INDES (2000). “Diseño y gerencia de políticas y programas sociales”.
- Morello, J.; Protomastro, J.; Sancholuz, L. A.; Blanco, C. 1986. “Estudio macroecológico de Los Llanos de La Rioja.” Serie del cincuentenario N° 5: 1-53. APN. Buenos Aires, Argentina.
- Lopez, G., Díaz, V. L., Serrano, B.A., Muñoz, M.L., Cartegena, T.M., Romero Ramírez, C.M. 2012. Veterinaria México, 43 (3): 213-223

BALANOPOSTITIS Y VULVITIS ULCERATIVA INFECCIOSA EN OVINOS MERINO DE LA PATAGONIA ARGENTINA

Robles, C.A.¹; Paramidani, M.²; Armando, S.V.¹

¹Grupo de Salud Animal, INTA Bariloche, ²Veterinaria Alvear, Esquel, Argentina.

Introducción

Durante el servicio de otoño, en Mayo de 2007 en un establecimiento ovejero de la provincia de Chubut, dedicado a la cría de ovinos Merino para producción de lana fina, se estaban usando carneros vasectomizados (retajos) para detectar celo en hembras para ser inseminadas, cuando se empezaron a observar retajos con lesiones ulcerativas en pene y prepucio y algunas hembras con úlceras en la zona vulvar. Ello derivó en el inicio a una tarea de investigación a fin de caracterizar clínica y epidemiológicamente la enfermedad presente, intentar determinar su causa y establecer un tratamiento para controlar el brote.

Materiales y Métodos

Se realizó la anamnesis del caso y se seleccionó un retajo y una hembra enfermos que fueron trasladados al INTA Bariloche para su estudio.

De ambos animales se realizaron hisopados de pene y prepucio y de vulva respectivamente que fueron cultivados en placas de agar sangre a 37°C en aerofilia y microaerofilia con el agregado de 10% de Dióxido de carbono. Posteriormente el macho fue necropsiado recolectándose muestras de vesículas seminales, ampollas de los conductos deferentes, epidídimos, testículos, ganglios linfáticos escrotales y orina que se cultivaron bajo las mismas condiciones que los hisopados.

Paralelamente, se revisó clínicamente el total de retajos del establecimiento para determinar prevalencia, cantidad y tipo de lesiones y distribución etárea de los afectados y se realizaron hisopados de pene y prepucio para cultivos bacteriológicos a otros 7 retajos afectados.

Resultados

El día 15 de mayo del 2007 se inicia en el establecimiento el trabajo de detección de celo mediante el uso de retajos y el día 28 de mayo, sobre los 29 retajos que se estaban usando se detectan 10 (34.5%) animales afectados. A la posterior revisión clínica del total de los 244 retajos se pudo observar que 74 (30.3%) de los animales estaban afectados.

Entre los signos y lesiones más característicos se encontraron: dolor en la zona prepucial, goteo de líquido sanguinolento por el orificio prepucial, congestión del prepucio, pene congestivo y turgente, presencia de úlceras en el glande del pene con la presencia de coágulos que ocupaban la cavidad de la ulcera y en otros casos con presencia de pus maloliente. En la Tabla 1 se presenta una síntesis de los hallazgos clínicos más importantes en los 74 retajos afectados.

Tabla 1. Frecuencia de los principales signos y lesiones detectadas en los 74 retajos afectados.

Signos – Lesiones detectados	Cantidad de animales	%
Congestión en pene	59	79.7
Congestión en prepucio	54	73.0
Ulcera con coágulos de sangre y/o pus	14	18.9
Ulcera cicatrizando	9	12.2
Pene turgente	6	8.1
Edema de glande	3	4.1
Fimosis / Parafimosis	3	4.1
Total animales con lesiones	74	

Finalmente, se revisó clínicamente el total de reproductores del establecimiento, observándose que, sobre 380 carneros solo 8 (2.1%) presentaban algún tipo de lesión compatible con las observadas en los retajos. Asimismo, sobre un total de 1700 hembras que fueron inseminadas, solo en 15 (0.88%) se hallaron lesiones de vulvitis ulcerativa.

En el macho remitido para estudio, se observó turgencia del pene, congestión severa del pene y prepucio y lesiones ulcerosas sangrantes en el glande (Foto 1). Al agravarse las lesiones iniciales el animal fue sacrificado y necropsiado. Macroscópicamente se constató que las lesiones estaban restringidas a pene y prepucio, no observándose lesiones en el pene peritoneal, glándulas anexas, testículo, epidídimo y vejiga urinaria.

Foto 1. Pene y prepucio de un retajo recientemente afectado donde resalta la congestión del prepucio y del pene y la presencia de úlceras cubiertas con coágulos de sangre.



En la hembra remitida para estudio, el cuadro clínico estaba caracterizado por una congestión de vulva y vagina y por la presencia de úlceras costrosas y sangrantes ubicadas principalmente en la piel de la zona vulvar (Foto 2).

Foto 2. Vulva de una borrega afectada. Nótese la presencia de úlceras costrosas y con presencia de pus en algún sector.



De los hisopados realizados de las áreas afectadas tanto del macho como de la hembra, se aisló *Arcanobacterium pyogenes*, *Pasteurella multocida* y *Streptococcus viridans*. De las muestras de órganos reproductivos internos obtenidas del macho tras la necropsia, no hubo aislamientos. De los hisopados de pene y prepucio de los 7 animales del lote de 244 retajos, se aisló de todos ellos *Arcanobacterium pyogenes* y *Pasteurella multocida* y en dos de ellos *Streptococcus viridans*. De los antibiogramas realizados se determinó que las 3 cepas aisladas eran sensibles a penicilina, ampicilina, tetraciclinas y ciprofloxacina.

Discusión y Conclusiones

Teniendo en cuenta que al inicio del servicio todos los animales estaban sanos y que 2 semanas después el 34.5% de los mismos ya estaban afectados, implica una alta tasa de infección.

El hecho de que la enfermedad se haya propagado durante el período en que los retajos eran usados a diario para detectar las hembras en celo, es altamente sugerente de que la vía de contagio haya sido la venérea, siendo los retajos 14 veces más susceptibles que los carneros y 34 veces más que las ovejas madre.

A pesar de la agresividad de la enfermedad, la presencia de lesiones e indicios de infección, estuvieron circunscriptas al pene, prepucio y vulva, no estando afectado el resto de los órganos del aparato reproductivo.

El aislamiento en forma consistente de *Arcanobacterium pyogenes* y *Pasteurella multocida* de todos los animales muestreados en esta oportunidad, sugieren que una de estas bacterias o ambas en conjunto podrían ser las causantes del brote que se reporta.

Se concluye que se trató de un brote de "Balanopostitis y vulvitis ulcerativa" de carácter infeccioso, de curso rápido causado por *Arcanobacterium pyogenes* o *Pasteurella multocida* o ambos agentes a la vez.

Se instauró un tratamiento antibiótico a base de oxitetraciclinas de acción prolongada que resultó efectivo en el control del brote.

Bibliografía

- Grieg, A. 2007. Ulcerative balanitis and vulvitis. En: Diseases of Sheep. Ed. I.D. Aitken. 4th edition. Blackwell Publishing, UK. pp: 143-145.
- Pritchard, G. C.; Scholes, S. F. E.; Foster A. P.; Mitchell, E. S. E.; Lawes, J.; Iyata, G.; Banks, M. 2008. Ulcerative vulvitis and balanitis in sheep flocks. The Vet. Rec., Vol. 163, 86-89.
- Webb, R. F. & Chick, B.F. 1976. Balanitis and vulvovaginitis in sheep. Aust. Vet. J. Vol. 52 (5):241-242.

ENCUESTA SEROLÓGICA SOBRE BRUCELOSIS EN CAPRINOS DE LA PROVINCIA DE MENDOZA

Robles, C.¹; Bernard, O.²; Zenocrati, L.³; Marcellino, R.¹

¹Grupo Salud Animal INTA Bariloche; ²Programa Caprino, Dirección de Ganadería, Mendoza; ³Comisión Provincial de Sanidad Animal de Mendoza

Introducción

La Brucelosis caprina es una enfermedad infecto-contagiosa crónica producida por alguna de las 3 biovariedades de *Brucella melitensis*, bacteria que fuera aislada por primera vez en 1887 por Bruce a partir de muestras de bazo de soldados enfermos en la isla de Malta. Si bien *Brucella melitensis*, tiene al caprino y al ovino como sus huéspedes naturales puede infectar una gran cantidad de especies animales y al ser humano, constituyendo una de las zoonosis de mayor importancia en el mundo.

La enfermedad tiene una amplia distribución mundial, siendo endémica en todos los países europeos del Mediterráneo, países del Medio Oriente, Latinoamérica, Centro y Oeste de Asia y esporádicamente en países de África y en la India (Alton, 1990; Crespo León, 1994).

En vista de la preocupación existente en la provincia de Mendoza por la presencia de esta enfermedad en caprinos y humanos, evidenciada en el Foro Caprino realizado en Malargue en abril del 2004 y en el Foro de Brucelosis Caprina realizado en Julio del 2004, se concluyó en el seno de la Comisión Asesora Provincial Caprina (C.A.Pro.Ca) que se debía realizar un estudio para conocer la situación de la brucelosis caprina en la provincia, para luego determinar las medidas de control a implementar. Durante 2005 y 2006, se realizó un trabajo conjunto entre la Dirección de Ganadería de la Provincia de Mendoza, la COPROSAMEN y el INTA Bariloche para estimar la prevalencia serológica y conocer la distribución, según zonas, de la Brucelosis caprina a nivel provincial.

Materiales y Métodos

El área del estudio comprendió el total del territorio de la provincia de Mendoza. Teniendo en cuenta las diferencias agro-ecológicas que tiene el territorio provincial y las diferencias en los sistemas de producción caprina, se dividió la provincia en 5 zonas homogéneas.

Siguiendo la metodología de muestreo aleatorio en 2 etapas y agregando un 35% mas de animales a sangrar para cubrir posibles perdidas de muestras o muestreos fallidos, se decidió muestrear 15 cabras adultas (mayores de 2 dientes) de cada uno de los 620 puestos que salieran sorteados.

Se tomaron muestras de sangre en forma individual de cada animal de la vena yugular mediante sistema vacutainer. Tras un reposo de 24 horas, se extrajeron los sueros, se pasaron a un tubito eppendorf y se congelaron a -20°C hasta su procesamiento.

La determinación de infección por *Brucella* se realizó en forma indirecta a través de la detección de anticuerpos anti-*Brucella* mediante el uso de la prueba de aglutinación rápida en placa con antígeno buferado-BPA.

Resultados

En la Tabla 1 puede observarse la cantidad y el porcentaje de establecimientos que resultaron positivos por región, como así también el rango de las prevalencias a nivel de predios positivos que se hallaron en cada zona. Se consideró establecimiento positivo todo aquel que tuvo al menos un animal positivo a la serología diagnóstica.

Tabla 1. Cantidad de establecimientos muestreados, cantidad y porcentaje de establecimientos positivos.

	N° de puestos muestreados	N° de puestos positivos	% puestos positivos	Rangos de sueros positivos según puesto
Zona 1	159	68	43 %	6.7 – 80 %
Zona 2	45	9	20 %	6.7 - 66.7 %
Zona 3	137	29	21 %	6.7 - 38.5 %
Zona 4	180	44	24 %	6.7 - 66.7 %
Zona 5	45	9	20 %	6.7 - 53.3 %
Totales	566	159	28.1 %	

En la Tabla 2 se presentan los resultados a la serología diagnóstica realizada sobre 8377 sueros colectados en las 5 regiones.

Tabla 2: Resultados de la serología obtenidos con la prueba del BPA.

	N° de sueros obtenidos	N° de sueros positivos a BPA	% sueros BPA positivos
Zona 1	2.373	224	9.4
Zona 2	667	36	5.4
Zona 3	2.023	61	3.0
Zona 4	2.639	115	4.4
Zona 5	675	41	6.1
Totales	8.377	477	5.7

Discusión y Conclusiones

De los 566 puestos muestreados, 159 (28.1%) resultaron positivos a la serología de *Brucella*. Mientras que las zonas 2, 3, 4 y 5 rondan el 20% de puestos infectados, la zona 1 duplicó esa cifra con un 43% de puestos infectados (Tabla N° 1). Los resultados de la zona 1 (43% de puestos positivos), están en concordancia con lo hallado previamente (42%) en el departamento de Lavalle, el cual está incluido en la zona 1 de nuestro estudio. La razón de esta diferencia tan marcada en la zona 1 se desconoce, por lo que sería conveniente realizar un estudio para determinar los posibles factores de riesgo involucrados en el mantenimiento y difusión de la infección en las diferentes zonas.

De las 8377 muestras de suero procesadas, 477 resultaron positivas al BPA, lo cual equivale a un 5.7% del total de los animales muestreados (Tabla N° 2). De este estudio surge que la enfermedad está presente en toda la provincia, sin embargo su distribución no es homogénea ya que hay áreas que duplicarían (zona 5) o triplicarían (zona 1) la prevalencia de brucelosis de la zona 3 que fue la de menor prevalencia.

En vista de los resultados obtenidos con la serología, se podría concluir que la enfermedad estaría distribuida en la totalidad del territorio provincial. Sin embargo solo el 28.1% de los establecimientos muestreados resultaron positivos. Dentro de los establecimientos positivos se observó una variación de las prevalencias de entre 6.7% al 80% lo cual constituye un hecho preocupante, en el sentido que esos establecimientos con alta prevalencia, constituyen reservorios importantes de la enfermedad y fuentes permanente de contagio a animales y humanos de otros puestos.

A fin de transpolar los valores hallados en la muestra a la población total de la provincia, se podría inferir con un 95% de confianza que la

prevalencia de establecimientos infectados en la zona estudiada es de $28.1 \pm$ un error absoluto de 6.0 (22.1% - 34.1%) y que la prevalencia de animales infectados en la provincia sería de $5.7\% \pm$ un error absoluto de 1.5 (4.2% a 7.2%).

En concordancia con las recomendaciones de los organismos internacionales y comités científicos relacionados al desarrollo y la salud como FAO, OIE, WHO, Unión Europea y expertos involucrados en el control de la brucelosis caprina, se debería pensar en un programa de vacunación masiva de jóvenes y adultos durante los primeros 6 a 8 años del plan, utilizando la vacuna *Brucella melitensis* REV I a dosis completa vía conjuntival. Finalizada esta etapa y tras la evaluación del programa, se podrá continuar con la misma estrategia o pasar a un sistema de mayor control ejerciendo una fuerte vigilancia epidemiológica sobre toda la población caprina.

Bibliografía

- Alton, G.G. 1990. *Brucella melitensis*. Capítulo 17:383-409. En: *Animal Brucellosis*, Ed. por Nielsen y Duncan. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA
- Blasco, J.M. 1997. A review of the use of *B. melitensis* REV I vaccine in adult sheep and goats. *Preventive Veterinary Medicine* 31 :275-283
- Crespo León, F 1994. *Brucelosis ovina y caprina*. Ed. Office International des Epizooties, Paris, Francia. ISBN 92-9044-342-1.
- Elberg, S.1996. Rev I *Brucella melitensis* vaccine. Part III – 1981-1995. *Veterinary Bulletin*, 66 (12):1193-1200.
- WHO. 2003. *Brucellosis in humans and animals*. Department of Communicable Disease Surveillance and Control, World Health Organization, Geneva, 96 páginas.

BRUCELOSIS CAPRINA: ENCUESTA SEROLÓGICA EN MAJADAS DE LA QUEBRADA DE HUMAHUACA, PROVINCIA DE JUJUY, ARGENTINA

Gaido, A.B.¹; Nieva, J.D.²; Salatin, A.O.¹; Aguirre, N.P.³; Aguirre, D.H.¹
¹INTA EEA Salta; ²INTA AER Hornillos, Jujuy; ³INTA EEA Rafaela

Introducción

La brucelosis caprina es una enfermedad infectocontagiosa, de curso crónico, producida por *Brucella melitensis*, bacteria Gram negativa altamente patógena, cuyos hospedadores principales son el caprino y el ovino; no obstante, también puede afectar a otras especies animales y al hombre, y es responsable de una de las zoonosis más severas y de mayor relevancia en el mundo.

Esta enfermedad ocasiona importantes trastornos reproductivos en las majadas, ya que clínicamente se caracteriza por abortos en hembras, nacimiento de crías poco viables y alteraciones del aparato genital en los machos. La transmisión al hombre puede ser en forma directa, por contacto con materiales provenientes de animales infectados; o indirecta, por consumo de productos lácteos o derivados contaminados y no pasteurizados. El reservorio de *B. melitensis* son los caprinos infectados, por lo que el control de la brucelosis se basa en el diagnóstico y en la eliminación de esos animales. Si bien la infección por *B. melitensis* es considerada endémica en las áreas de cría caprina del noroeste argentino (NOA), la información disponible indica niveles variables de prevalencia en las provincias que conforman esta región. Así, la provincia de Jujuy, con una población de 152.952 caprinos, registra escasos antecedentes de brucelosis caprina. En ella, la Quebrada de Humahuaca conforma una zona agroecológica homogénea donde habita una población de 51.593 caprinos, equivalente a un tercio del total provincial. La mayoría de las majadas pertenece a pequeños productores de bajo nivel socioeducativo, que basan su producción en una actividad agrícola-ganadera de autoconsumo, mercadeo y trueque, caracterizada por una pobre diversificación, bajos índices productivos y escasa adopción de tecnología.

La brucelosis caprina puede ocasionar serios perjuicios en estas economías regionales de subsistencia pues, además de afectar la salud pública, constituye una barrera para la comercialización de los animales y de sus productos. A fin de contar con información epidemiológica actualizada de esta enfermedad, se realizó una encuesta serológica en majadas caprinas de la Quebrada de Humahuaca.

Materiales y Métodos

El estudio se realizó en los tres departamentos que comprenden la Quebrada: Tumbaya, Tilcara y Humahuaca. La Quebrada es un valle andino que se extiende de norte a sur, cuyas coordenadas extremas son: Norte 22°35' S – 65°21' W, Sur 24°01'S – 65°26' W, Este 23°09'S- 65°02' W y Oeste 23°08' S - 65°43' W. La altitud sobre el nivel del mar oscila entre los 1.350 y 3.440 m. El régimen térmico está determinado en parte por el relieve y principalmente por la altitud. El clima es árido con acentuada amplitud térmica diaria. La temperatura media anual ronda entre los 12 °C y los 14 °C. Las precipitaciones, torrenciales y estivales, no superan los 200 mm anuales.

Entre setiembre 2006 y noviembre 2008 se tomaron muestras de sangre de 3.271 caprinos adultos de 234 majadas, las que en promedio contaban con 113 caprinos (rango 5-540), en su mayoría mixtas con ovinos. Las muestras de sangre entera se obtuvieron en forma individual por punción de la vena yugular. Una vez liberados, los sueros se centrifugaron a 2.500 rpm por 10 minutos y se conservaron en tubos Eppendorf a -20 °C hasta su procesamiento por la prueba diagnóstica tamiz de BPA y por FC como prueba confirmatoria. En ambas se utilizó como antígeno *Brucella abortus* (Lab. Biotenk). El muestreo fue por conveniencia, según los límites prácticos impuestos por el entorno: capacidad de trabajo del equipo de campo, accesibilidad en terreno y disposición de los propietarios de las majadas para acceder a los requerimientos inherentes al estudio.

Resultados

La Tabla 1 detalla el número de caprinos y majadas muestreadas, el total de caprinos de esas majadas y el stock caprino por cada departamento de la Quebrada de Humahuaca. Solo nueve hembras (0,27%) de ocho majadas (3,41%) fueron positivas a BPA, pero ninguna fue confirmada por FC.

El total de caprinos integrantes de las majadas involucradas en este estudio ascendió a la mitad (51%) de la población de caprinos censada para los tres departamentos de la Quebrada con porcentuales diferentes entre ellos: 61% en Tumbaya, 79% en Tilcara y 33% en Humahuaca. Además, el total de caprinos muestreados alcanzó al 12,4% de ese universo.

Tabla 1. Caprinos muestreados según sexo, número de majadas muestreadas, total de caprinos de esas majadas y stock caprino por cada departamento de la Quebrada de Humahuaca, provincia de Jujuy, Argentina.

Departamento	Caprinos muestreados			Número de majadas muestreadas	Total caprinos por majada	Stock caprino del departamento
	Total	Hembras	Machos			
Tumbaya	1 521	1 411	110	111	10 573	17 255
Tilcara	877	815	62	63	7 709	9 685
Humahuaca	873	818	55	60	8 141	24 653
Total	3 271	3 044	227	234	26 387	51 593

Discusión

Los resultados actuales concuerdan con los obtenidos hace poco más de una década en 27 rebaños en los que se muestrearon 310 caprinos. También concuerdan con los resultados de otra área de altura adyacente (departamento Santa Victoria, Salta) donde para la misma época no se encontraron seroreactores a brucelosis entre 454 caprinos de 24 majadas.

Por el contrario, estudios efectuados hace tres décadas en el Chaco salteño registraron una prevalencia de brucelosis caprina individual y a nivel de majadas de 14,9% y 70%, respectivamente, en 1.663 cabras de 37 rebaños del departamento Rivadavia, Salta.

El contraste entre situaciones epidemiológicas disímiles es también evidente cuando se comparan resultados de encuestas serológicas en otras provincias del NOA. Así, en evaluaciones realizadas en Santiago del Estero no se hallaron reactores a brucelosis en 800 caprinos de 24 majadas del departamento Robles ni en 400 caprinos de 15 rebaños del departamento Río Hondo, como tampoco en 140 caprinos de 14 hatos del departamento Ojo de Agua.

En contraposición, la brucelosis caprina aparece mucho más difundida en Catamarca, según reflejan encuestas serológicas realizadas entre dos y tres décadas atrás en los departamentos La Paz, Tinogasta y Pomán. En el primero se evaluaron 1.200 caprinos de 39 hatos con una prevalencia individual de 3,2% y de 25% a nivel de majada. Los resultados de Tinogasta fueron similares, ya que la evaluación de 1.089 caprinos de 36 rebaños mostró una prevalencia individual de 2,9% y de 33,3% para las majadas. En tanto que el estudio efectuado en Pomán detectó, en 3.591 caprinos de 94 hatos, una prevalencia individual de 11,7% y de 72,3% a nivel de rebaño.

La mayor presencia relativa de majadas caprinas manejadas en condiciones primitivas en las provincias que conforman el NOA colaboró para que se considerara la región como un área de alta prevalencia de brucelosis. Sin embargo, los resultados y antecedentes aquí presentados revelan la baja o nula prevalencia de brucelosis caprina en amplias zonas de esta región del país. La dispar distribución geográfica de la brucelosis en los hatos caprinos de las provincias del NOA resulta difícil de explicar con los criterios epidemiológicos convencionales ya que la difusión de la infección entre distintas zonas geográficas sigue el movimiento de los animales infectados. Sería importante llevar a cabo más estudios serológicos que permitan ampliar el conocimiento epidemiológico de la brucelosis caprina y así poder adoptar las medidas de vigilancia correspondientes. A fin de preservar las zonas de nula o baja prevalencia, debe evitarse en forma consistente la adquisición de caprinos provenientes de otras zonas sin que se efectúen, de modo previo, los controles serológicos adecuados.

Bibliografía

- Iglesias Casal J. 1990. Exposición breve de la problemática regional y trabajos desarrollados. En: Aspectos técnico-metodológicos del accionar frente a la problemática de la brucelosis caprina. Mem. Mesa Redonda, INTA EEA Catamarca, Argentina, pp. 28-32.
- Underwood S.C., Decaminada E.C., Grimoldi F., Moras E.V. y Carfagnini J.C. 2003. Estudio de la prevalencia de brucelosis, tuberculosis y paratuberculosis en cabras lecheras y carniceras pertenecientes a minifundistas de Santiago del Estero. Rev. Arg. Prod. Anim. 23: 53-61.
- Gaido A., Salatin A., Neumann R., Marinconz R., Rossetto C., Aguirre N., Suárez, V. and Aguirre, D. 2011. Goat brucellosis: a serological study in flocks from the east of Salta, Argentina. Brucellosis Int. Res. Conf., Buenos Aires, Argentina, p. 94.

BRUCELOSIS CAPRINA: ENCUESTA SEROLÓGICA EN MAJADAS DE LOS VALLES CALCHAQUÍES, PROVINCIA DE SALTA, ARGENTINA

Gaido, A.¹; Colque Puppi, F.²; Bravo, R.³; Grossberger, G.⁴; Cortez, H.¹; Bertoni, E.¹; Salatin, A.¹; Aguirre, D.¹
¹IIACS INTA Salta; ²Cambio Rural INTA Salta; ³INTA AER Cafayate; ⁴SAF, Salta

Introducción

La brucelosis caprina es una enfermedad infectocontagiosa, de curso crónico, producida por *Brucella melitensis*, bacteria altamente patógena, cuyos hospedadores principales son el caprino y el ovino, aunque también afecta a otras especies animales y al hombre, en el cual es responsable de una de las zoonosis más relevantes a nivel mundial.

Esta enfermedad ocasiona importantes trastornos reproductivos en las majadas, ya que clínicamente se caracteriza por abortos en hembras, nacimiento de crías poco viables y alteraciones del aparato genital en los machos. La transmisión al hombre puede ser en forma directa, por contacto con materiales provenientes de animales infectados; o indirecta, por consumo de productos lácteos o derivados contaminados y no pasteurizados. El diagnóstico de la brucelosis caprina se realiza por medio de pruebas serológicas entre las cuales se recomienda la aglutinación en placa con antígeno bufferado (BPA) como prueba tamiz y la fijación del complemento (FC) como confirmatoria. Una prueba confirmatoria alternativa es la polarización fluorescente (FPA).

Aunque la infección por *B. melitensis* es considerada endémica en las áreas de cría caprina del norte argentino, la información disponible indica una situación disímil para diferentes provincias que integran la región. Así, mientras en ciertos departamentos de Catamarca, Salta y Formosa la brucelosis caprina resulta endémica, otros estudios muestran amplias áreas con escasa o nula presencia de la infección.

El área de Valles Calchaquíes de la provincia de Salta conforma una zona agroecológica homogénea donde habita una población de 65.353 caprinos. La mayoría de las majadas pertenece a pequeños productores de bajo nivel socioeducativo, que basan su producción en una actividad agrícola-ganadera de autoconsumo, mercadeo y trueque, caracterizada por una pobre diversificación, bajos índices productivos y escasa adopción de tecnología.

La brucelosis caprina puede ocasionar serios perjuicios en estas economías regionales de subsistencia pues, además de afectar la salud

pública, constituye una barrera para la comercialización de los animales y de sus productos. A fin de contar con información epidemiológica actualizada de esta enfermedad, se realizó una encuesta serológica en majadas caprinas de los Valles Calchaquíes de la provincia de Salta.

Materiales y Métodos

El estudio se llevó a cabo en tres de los cuatro departamentos salteños que comprenden el área de los Valles Calchaquíes: Cachi, Cafayate y San Carlos. Ubicados en el Oeste de la provincia de Salta, estos valles conforman una franja de unos 200 km a lo largo del río Calchaquí, que corre de norte a sur, entre los 24° 30' y 26° 30' de latitud Sur, 66° 20' de longitud Oeste. La altitud sobre el nivel del mar oscila entre los 1.600 y 3.200 m. El régimen térmico está determinado en parte por el relieve y principalmente por la altitud. El clima es árido con acentuada amplitud térmica diaria. La temperatura media anual ronda entre los 12 °C y los 14 °C. Las precipitaciones, torrenciales y estivales, no superan los 200 mm anuales.

El muestreo se realizó en dos etapas: entre marzo 2009 y abril 2011 se tomaron muestras de sangre de 1.277 caprinos de 94 rebaños (45 de Cachi, siete de Cafayate y 42 de San Carlos), en tanto entre noviembre 2014 y agosto 2015 se tomaron muestras de sangre de 378 caprinos adultos de 18 majadas ubicadas en la zona de Amblayo, departamento San Carlos. Las majadas contaban, en promedio con unos 80 caprinos (rango 7-500), algunas de ellas mixtas con ovinos. Las muestras de sangre entera se obtuvieron en forma individual por punción de la vena yugular. Una vez liberados, los sueros se centrifugaron a 2.500 rpm por 10 minutos y se conservaron en tubos Eppendorf a -20 °C hasta su procesamiento por la prueba tamiz de BPA y por la prueba confirmatoria de FPA. Para esta última el valor de corte correspondió a > 85 UmP.

El muestreo fue por conveniencia, según los límites prácticos impuestos por el entorno: capacidad de trabajo de los equipos de campo, accesibilidad en terreno y disposición de los propietarios de las majadas para acordar con los requerimientos inherentes al estudio.

Resultados

La Tabla 1 detalla el número de caprinos y majadas muestreadas, el total de caprinos de esas majadas y el stock caprino por cada departamento de los Valles Calchaquíes. Solo cinco hembras (0,3%) de otras tantas majadas (4,5%) fueron positivas a BPA, pero ninguna fue confirmada por FPA.

El total de caprinos integrantes de las majadas comprendidas en este estudio representó un 16,9% de la población de caprinos censada para los tres departamentos, con porcentuales diferentes entre ellos: 34,1% en Cachi, 9,4% en Cafayate y 11,3% en San Carlos. Por su parte, el total de caprinos muestreados constituyó el 3,4% de ese universo (Tabla 1).

Tabla 1. Caprinos muestreados según sexo, número de majadas muestreadas, total de caprinos de esas majadas y stock caprino por cada departamento de los Valles Calchaquíes, provincia de Salta, Argentina.

Departamento	Caprinos muestreados			Número de majadas muestreadas	Total caprinos por majada	Stock caprino del departamento
	Total	Hembras	Machos			
Cachi	652	641	11	45	4 330	12 693
Cafayate	117	110	7	7	578	6 142
San Carlos	886	825	61	60	3 442	30 328
Total	1 655	1 576	79	112	8 350	49 163

Discusión

Los actuales resultados negativos concuerdan con los obtenidos hace tres lustros en otra área de altura de Salta (departamento Santa Victoria) donde no se hallaron seroreactores a brucelosis entre 454 caprinos de 24 majadas. Coinciden además con resultados más recientes en la Quebrada de Humahuaca, Jujuy, donde tampoco hubo seroreactores entre 3.271 caprinos pertenecientes a 234 rebaños. Por el contrario, estudios efectuados hace más de tres décadas en el área agroecológica Chaqueña de Salta (departamento Rivadavia) registraron una prevalencia de brucelosis caprina de 14,9% y 70% a nivel individual y de majadas, respectivamente. Encuestas serológicas posteriores en rebaños de esa misma área (departamentos Rivadavia y San Martín) confirmaron la persistencia de focos endémicos de brucelosis caprina.

Esta disimilitud entre situaciones epidemiológicas de brucelosis caprina se constata también cuando se coteja información de otras provincias del norte argentino. Así, por ejemplo, en la provincia de Santiago del Estero no se encontraron reactores a brucelosis en tres encuestas serológicas realizadas durante las últimas dos décadas en los departamentos Robles, Río Hondo y Ojo de Agua. Opuestamente, la presencia de brucelosis caprina se evidencia en varios departamentos de las provincias de Catamarca y Formosa. La primera mostró prevalencias individuales de 3,2%, 2,9% y 11,7% en los departamentos La Paz, Tinogasta y Pomán, respectivamente, donde las prevalencias a nivel de rebaños fueron a su vez de 25,0%, 33,3% y 72,3%, respectivamente. Por su parte, un estudio reciente en Formosa registró para las zonas

central y occidental de esa provincia prevalencias a nivel de majada de 12% y 36%, respectivamente.

Los escasos aislamientos de *B. melitensis* realizados en estos estudios mostraron en todos los casos la presencia del biovar 1, tanto en caprinos como en ovinos de las provincias de Salta y Formosa.

La presencia predominante en el norte argentino de hatos caprinos en condiciones de producción extensiva con escasa adopción tecnológica determinó que la región se considerara como de alta prevalencia de brucelosis. Sin embargo, los actuales resultados, así como algunos precedentes, revelan la baja o nula prevalencia de brucelosis caprina en amplias zonas de esta región del país, en las que no implicaría riesgos para la producción pecuaria ni para la salud pública. A fin de preservar la condición epidemiológica de estas áreas habría que evitar la recepción de caprinos oriundos de otras zonas sin antes realizar los controles serológicos adecuados.

Bibliografía

- Gaido, A.B., Nieva, J.D., Salatin, A.O., Aguirre, N.P. y Aguirre, D.H. 2013. Brucelosis caprina: encuesta serológica en majadas de la Quebrada de Humahuaca, provincia de Jujuy, Argentina. Rev. Med. Vet. (Bs. As.) 94: 58-61.
- Russo A.M., Mancebo O.A., Monzón C.M., Gait, J.J.; Casco, R.D. y Torioni de Echaide, S. 2016. Epidemiología de la brucelosis caprina y ovina en la provincia de Formosa, Argentina. Rev. Arg. Microbiol. 48: 147-153.

RESPUESTA INMUNE Y COMPORTAMIENTO DE LAS PRUEBAS DE BPA, FPA Y ELISA INDIRECTO, EN CAPRINOS VACUNADOS CON LA VACUNA *Brucella melitensis* REV I APLICADA VÍA CONJUNTIVAL EN DOSIS COMPLETA

Robles, C.A.; Chodilef, M.; Cabrera, F.R.
Grupo de Salud Animal, INTA Bariloche

Introducción

La brucelosis caprina es una enfermedad infecto-contagiosa crónica producida por alguna de las 3 biovariedades de *Brucella melitensis* descriptas hasta el presente.

Para el control de la enfermedad se cuenta básicamente con 2 herramientas: el diagnóstico y la vacunación.

En el caso de la vacunación se utiliza la vacuna *Brucella melitensis* REV I tanto en animales jóvenes como adultos y ya sea aplicándola de manera subcutánea o conjuntival, siendo hasta el presente la única vacuna aconsejada por la OIE.

A partir de que en Argentina se comenzó a usar la vacuna *Brucella melitensis* REV I como método de control de la brucelosis caprina en las provincias de Mendoza, San Juan, Catamarca y Salta, se decidió realizar un estudio para determinar la respuesta inmune humoral de la vacuna *Brucella melitensis* REV I en caprinos criollos y determinar cómo reaccionan las técnicas de diagnóstico serológico usadas en el país ante la presencia de anticuerpos vacunales.

Materiales y Métodos

Se utilizaron 11 caprinos criollos, de 4 años de edad, provenientes de un establecimiento libre de brucelosis y donde nunca se había vacunado previamente contra esta enfermedad.

Animales y diseño del ensayo: En el día cero los animales fueron divididos en 3 grupos, se les extrajo sangre sin anticoagulante a la totalidad de los animales y luego fueron vacunados de la siguiente manera:

Grupo 1 (G1): 5 cabras con una dosis completa (1×10^9) de *B. melitensis* REV 1, mediante la deposición de una gota de 30 μ l en el ojo izquierdo. Grupo 2 (G2): 3 machos cabríos vacunados de la misma manera que el G1. Grupo 3 (G3): 3 cabras que actuaron como controles sin vacuna alguna a las que se les depositó una gota de 30 μ l de solución fisiológica en el ojo izquierdo.

Tras la vacunación, los 3 grupos fueron sangrados a los 7, 15, 22, 30, 37, 45, 52, 60, 75, 90, 105, 120, 150, 180, 210, 240, 270, 300, 330 y 360. Las muestras de sangre fueron tomadas directamente de la vena yugular mediante sistema vacutainer®. Posteriormente

se extrajo el suero con micropipeta, el cual fue congelado en freezer a -20°C en tubitos eppendorf hasta su procesamiento.

En cada fecha de sangrado se realizó una revisión clínica de los animales, en búsqueda de algún signo clínico que pudiera estar indicando algún efecto adverso de la vacuna.

Pruebas de laboratorio.

La totalidad de las muestras de suero de los 3 grupos de animales fueron procesadas mediante la Aglutinación rápida en placa con antígeno bufferado (BPA), Fluorescencia polarizada (FPA) tomando un punto de corte de 87 ump y un test de Enzimoimmunoensayo indirecto (ELISA) desarrollado y validado localmente con un punto de corte de PP=20. Brevemente: Se utilizaron microplacas de 96 hoyos y como antígeno el LPS de *Brucella abortus*. Se incubó a 27°C durante la noche y al día siguiente las placas fueron congeladas a -20°C hasta su uso. Antes de usar las placas fueron descongeladas a temperatura ambiente, lavadas 3 veces con PBS+Tween 20 y se agregaron a cada placa 100 μ l de los sueros controles y 100 μ l de los sueros problema diluidos 1:200 en PBS-T-EDTA y se incubaron a 27°C durante 60 minutos. Terminada la incubación, las placas fueron lavadas tres veces con PBS-T y se les agregó 100 μ l por pocillo de un conjugado comercial a base de proteína A/G recombinante conjugado con peroxidasa y se incubó a 27°C por 60 minutos. Tras la incubación, las placas fueron lavadas nuevamente tres veces con PBS-T y se les agregó 100 μ l por pocillo de una solución de sustrato/cromógeno compuesta por un buffer citrato, peróxido de hidrógeno y ABTS. Las placas fueron incubadas por 10 minutos a 27°C bajo agitación y se leyeron en un espectrofotómetro a 414 nm. Los resultados, de cada suero control y sueros problema analizados fueron expresados como el porcentaje de positividad (PP) de la densidad producida por cada suero problema respecto a la media de la densidad óptica (DO) producida por el suero control positivo fuerte.

Resultados

En las sucesivas revisiones clínicas que se realizaron en oportunidad de cada sangrado, nunca se detectó irritación en los ojos, fiebre, alteraciones palpables en los ganglios linfáticos

de los 8 animales vacunados y en los órganos reproductivos de los 3 machos.

Prueba del BPA: G1: A partir del día 15 el 100% de los animales arrojó resultados positivos hasta el día 105, en que comienzan a bajar los anticuerpos y para el día 240 todos los animales resultaron negativos a excepción de una cabra que continuó dando resultados positivos hasta el día 360, en que finalizó el ensayo. G2: A partir del día 15 el 100% de los machos dieron resultados positivos y así se mantuvieron hasta el final del ensayo. G3: El 100% de los animales permanecieron siempre negativos a lo largo de todo el ensayo.

Prueba de la FPA: G1: a partir del día 15 post vacunación, se detecta la presencia de anticuerpos, que alcanza su pico máximo a los 37 días post vacunación con 176 ump, para luego comenzar a decaer rápidamente hacia el día 90 con 81 ump y seguir así en valores bajos hasta el final del ensayo. A partir del día 150 todas las cabras eran negativas a la prueba con un valor promedio de 76 ump. G2: Al igual

que para el G1 a los 15 días post vacunación se detecta la presencia de anticuerpos que alcanza su pico máximo a los 45 días post vacunación con 137 ump. Luego la curva comienza a descender de manera amesetada permaneciendo todos los animales positivos hasta el final del ensayo con un valor promedio de 98 ump al día 360. G3: Los animales se mantuvieron entre valores promedios mínimos de 42 ump y promedios máximo de 80 ump, siendo negativos a los largo de todo el ensayo.

Prueba del ELISA: G1: A partir del día 15 el 100% de los animales presenta resultados positivos con un PP promedio de 39. A partir de allí los niveles de anticuerpos continúan subiendo hasta el día 45 (PP: 113) y a partir de allí comienzan a bajar los títulos hasta negativizarse el día 180 (PP: 18.4). G2: A partir del día 15 el 100% de los machos presenta resultados positivos (PP: 27) y se mantiene así hasta el final del ensayo con un PP promedio de 33.7 el día 360. G3: Todos los animales se mantuvieron negativos a los largo del ensayo con PP promedio de 1.9. (Gráfico 1)

Gráfico 1. Respuesta inmune de la vacuna *B. melitensis* REV I, medidas con un test de ELISA.



Conclusiones

La cepa REV 1, aplicada en forma conjuntival en dosis completa en adultos, produjo una fuerte respuesta inmune humoral, tanto en hembras como en machos. A diferencia de lo que ocurre con la aplicación de esta misma vacuna por la vía subcutánea, en este caso, tras haber transcurrido entre 150 y 180 días los animales se negativizaron. Este dato es de gran importancia, ya que ante un programa donde se vacune a todas las hembras adultas y a la reposición, se le podría sumar una actividad de sangrado con descarte de positivos a partir de los 6 meses de aplicada la vacuna, en el caso de que la serología se realice con el test de Elisa descrito en este trabajo. A diferencia de lo que ocurrió con las hembras los machos vacunados nunca se negativizaron a ninguna de las 3 pruebas al

término de los 360 días que duró el ensayo, por lo que se desaconseja vacunar machos adultos en cualquier estrategia de control que se quiera implementar

Bibliografía

- Alton G.G. 1990. *Brucella melitensis*. En: Animal Brucellosis :384-402. Ed. Nielsen & Duncan, Boca ratón, USA.
- Blasco, J.M. (1997) A review of the use of *B. melitensis* REV I vaccine in adult sheep and goats. Preventive Veterinary Medicine 31, :275-283.
- Fensterbank R. 1986. Brucelosis bovina, ovina y caprina: diagnóstico, control y vacunación. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz. 5 -619-633.
- Díaz-Aparicio, E.; Marín, C.; Alonso-Urmeneta, B.; Aragón, V.; Pérez-Ortíz, S.; Pardo, M.; Blasco, J.M.; Díaz, R.; Moriyón, I. 1994. Evaluation of serological tests for diagnosis of *Brucella melitensis* infection of goats. J. Clin Microbiol, 32 :1159-1165.

PUESTA A PUNTO DE UNA PCR PARA LA DETECCIÓN Y DIFERENCIACIÓN DE CEPAS DE *Brucella melitensis* DE CAMPO Y CEPA VACUNAL REV I

Alvarez, L.¹; Robles, C.²

¹IPATEC-CONICET; ²Grupo de Salud Animal, INTA Bariloche

Introducción

La brucelosis caprina es una enfermedad crónica infecto-contagiosa producida por *Brucella melitensis*, cuyo principal síntoma es el aborto en hembras y la orquitis en machos. La enfermedad tiene una distribución mundial y en la Argentina está claramente presente en las provincias de Salta, Formosa, Chaco, Catamarca, Tucumán, La Rioja, Mendoza y San Luis, entre otras. Comúnmente la enfermedad se diagnostica mediante análisis serológicos o estudios bacteriológicos para aislar *B. melitensis*.

A partir de la introducción de la vacuna REV I, cepa atenuada de *B. melitensis*, en los programas de control, suelen ocurrir accidentes debido a la vacunación por error de cabras gestantes lo que conlleva en muchos casos al aborto. En estas situaciones es imperativo intentar el aislamiento e identificación de la bacteria causante del aborto para poder definir si el mismo fue producido por la cepa de campo o por la cepa vacunal. Si bien esto es posible, no siempre los fetos llegan en buenas condiciones al laboratorio y el cultivo e identificación de las cepas aisladas demandan al menos 2 semanas de trabajo.

A fin de facilitar y acortar los tiempos diagnósticos se trabajó en la puesta a punto de una PCR múltiple sencilla que permita identificar y diferenciar el ADN de las cepas de *B. melitensis* de campo y de la cepa vacunal REV I.

Materiales y Métodos

Muestras: Para la puesta a punto de la PCR se trabajó con una cepa vacunal REV-1 comercial (OCUREV, lote 07002, laboratorio CZV, España), tres aislamientos de campo de REV I, tres aislamientos de campo de *B. melitensis* y tres aislamientos de campo de *B. ovis*. Las cepas fueron sembradas en agar Columbia suplementado con 7% de sangre de carnero e incubadas a 37°C con 20% de CO₂ (*B. ovis*) o en aerobiosis (*B. melitensis* y REV I). Con el fin de evaluar la PCR sobre tejidos de fetos abortados, se obtuvieron muestras de bazo, hígado y pulmón de fetos abortados de cabra, se homogeneizaron con solución fisiológica estéril. Luego, 200 µl de la solución o de abomaso se sembraron en agar sangre Columbia a 37°C por 7 días.

Las colonias fueron identificadas con pruebas bioquímicas.

Extracción de ADN: El ADN de las colonias se purificó con el kit de extracción de ADN genómico de Accuprep (Bioneer, Corea), según las instrucciones del fabricante. El ADN de los homogenatos de tejidos se aisló por 3 métodos: fenol/cloroformo (F/C), Chelex (Bio-Rad) (CH) y Chelex + proteinasa K (CHK).

PCR: A partir del ADN extraído se realizaron tres PCRs utilizando los cebadores específicos REV Fw 5' CAG GCA AAC CCT CAG AAG C 3' y REV Rv 5' GAT GTG GTA ACG CAC ACC AA 3' que amplifican un fragmento de 218 pb (4) y los cebadores Bmel Fw 5' TGC CGA TCA CTT AAG GGC CTT CAT 3' y Bmel Rv 5' AAA TCG CGT CCT TGC TGG TCT GA 3' que amplifican un fragmento de 731 pb. Los cebadores fueron analizados utilizando el programa IDT Oligo Analyzer. Las reacciones de PCR se llevaron a cabo usando 200 µM de dNTPs, 1,5 o 2 mM de MgCl₂, GoTaq buffer 1X, 0,5 µM de cada cebador específico, 0,05 U/µl de GoTaq ADN polimerasa y 1 µl de ADN (200-500 ng) en un volumen final de 25 µl. El ciclo de amplificación fue el siguiente: 95°C 5 min; 30 ciclos de 95°C 30 seg, 64°C o 55°C 1 min, 72°C 1 min o 2 min; y un ciclo final de 72°C 5 minutos. Los productos de PCR se separaron en geles de agarosa al 1,5% teñidos con GelRed y se visualizaron bajo luz UV en un transiluminador.

Resultados

PCR sobre colonias aisladas:

PCR 1: 200 µM de dNTPs, 2 mM de MgCl₂, GoTaq buffer 1X, 0,5 µM de cada cebador específico, 0,05 U/µl de GoTaq ADN polimerasa y 1 µl de ADN (200-500 ng) en un volumen final de 25 µl. Ciclo: 95°C 5 min; 30 ciclos de 95°C 30 seg, 55°C 1 min, 72°C 2 min; y un ciclo final de 72°C 5 minutos. Se obtuvieron fragmentos de 731 pb y 218 pb tanto en REV-1 como en *B. melitensis*. El fragmento de 218 pb también se obtuvo en *B. ovis*.

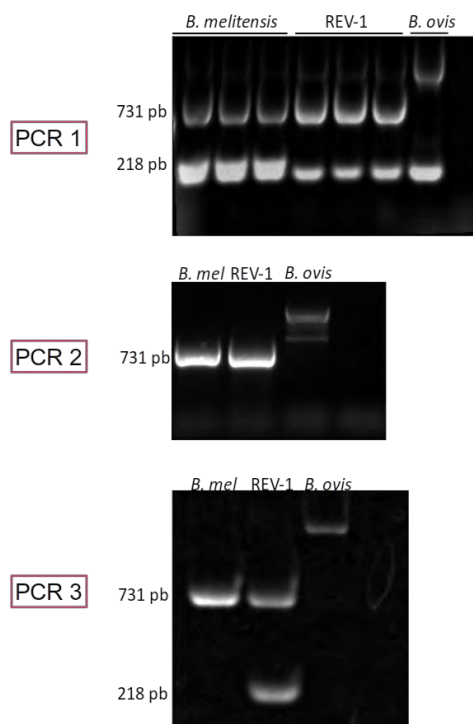
PCR 2: 200 µM de dNTPs, 1,5 mM de MgCl₂, GoTaq buffer 1X, 0,5 µM de cada cebador específico, 0,05 U/µl de GoTaq ADN polimerasa y 1 µl de ADN (200-500 ng) en un volumen final de 25 µl. Ciclo: 95°C 5 min; 30 ciclos de 95°C 30 seg, 64°C 1 min, 72°C 1 min;

y un ciclo final de 72°C 5 minutos. Se obtuvo sólo el fragmento de 731 pb en REV 1, *B. melitensis* y *B. ovis*.

PCR 3: 200 µM de dNTPs, 2 mM de MgCl₂, GoTaq buffer 1X, 0,5 µM de cada cebador específico, 0,05 U/µl de GoTaq ADN polimerasa y 1 µl de ADN (200-500 ng) en un volumen final de 25 µl.

Ciclo: 95°C 5 min; 30 ciclos de 95°C 30 seg, 64°C 1 min, 72°C 1 min; y un ciclo final de 72°C 5 minutos. Se obtuvieron los fragmentos esperados de 731 pb y 218 pb para REV-1 y de 731 pb para *B. melitensis*. Para *B. ovis* se obtuvieron fragmentos inespecíficos de mayor peso molecular.

Figura 1. Puesta a punto de PCR diferencial entre *B. melitensis* y REV-1.



PCR sobre muestras de tejidos:

Para determinar si la PCR era capaz de detectar la presencia de *B. melitensis* o REV-1 directamente sobre tejidos, ensayamos la PCR sobre ADN aislado de tejidos de fetos caprinos abortados. El diagnóstico microbiológico fue llevado a cabo en paralelo y mostró resultados positivos para REV-1 en los 4 animales analizados. Sin embargo, los animales 2 y 4 mostraron un gran número de contaminantes y un bajo número de colonias de REV-1. La PCR fue capaz de detectar ADN de REV-1 en 2 de los 4 animales analizados (pulmones del animal 1 y abomaso del animal 3). En los animales 2 y 4 no se detectó REV-1 por PCR (Figura 2). Las bandas más definidas se obtuvieron con el método F/C. Sin embargo, este método es más laborioso y costoso. De los métodos de extracción con Chelex, que son más rápidos y

económicos, el método CHK fue el más ventajoso.

Discusión

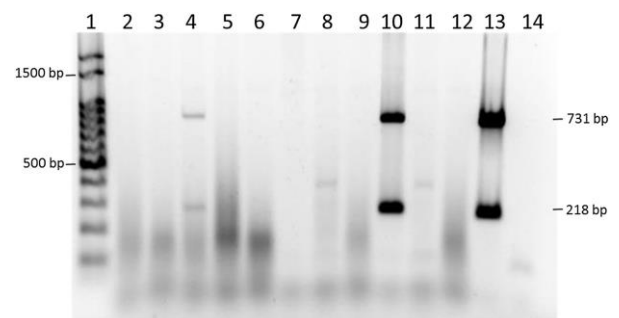
En los últimos años se ha intentado diferenciar *B. melitensis* de REV-1 por PCR-RFLP que es una técnica más cara y más laboriosa que la PCR convencional y por PCR múltiple para todas las especies de *Brucella spp.* lo cual demanda el uso de muchos pares de cebadores convirtiéndolo en un diseño caro y laborioso. La PCR múltiple 3 de este trabajo fue capaz de diferenciar la cepa vacunal REV-1 con respecto a las cepas de campo de *B. melitensis*, con sólo 2 pares de cebadores, tanto en cepas aisladas como en tejidos.

Además permite diferenciar a *B. melitensis* de *B. ovis* en las regiones donde ambas brucelas conviven en ovinos. Esta PCR podría ser implementada para identificar *B. melitensis* o REV-1 en colonias del cultivo bacteriológico, así como también efectuar el diagnóstico molecular directo sobre muestras de tejidos (preferentemente abomaso o pulmones).

El tiempo de trabajo se acorta considerablemente con respecto al cultivo e identificación bioquímica, tomando sólo un día de trabajo. El costo del diagnóstico molecular completo se estimó en alrededor de \$35 por muestra.

En conclusión, la PCR puesta a punto en este trabajo resulta muy conveniente ya que acorta considerablemente los tiempos de detección del agente etiológico, arroja un resultado confiable y el costo es aceptable.

Figura 2. PCR duplex sobre ADN de tejidos de fetos aislado con el método CHK. 1: Marcador de peso molecular; 2-4: animal 1 (bazo, hígado, pulmón); 5-8: animal 2 (bazo, hígado, abomaso, pulmón); 9-10: animal 3, (hígado, abomaso); 11-12: animal 4, (abomaso, bazo); 13: control +; 14: control.



Bibliografía

- Alton, G.G., Nielsen and Duncan. Editors. 1990, CRC Press: Florida, USA. p. 383-409.
- Alvarez L. P. Comunicación Técnica, Area Producción Animal, INTA Bariloche, ISSN 1667-4006.
- Bricker, B.J. and S.M. Halling, J Clin Microbiol, 1994. 32(11): p. 2660-6.

BRUCELOSIS OVINA EN PATAGONIA: ANÁLISIS DE 15 AÑOS DE DIAGNÓSTICO EN EL INTA BARILOCHE

Robles, C.A.; Martínez, A.; Chodilef, M.
Grupo de Salud Animal, INTA Bariloche

Introducción

La brucelosis ovina es una enfermedad infecciosa de curso crónico producida por *Brucella ovis*. Clínicamente se caracteriza por epididimitis y semen de mala calidad en los machos y aborto en las hembras.

La enfermedad genera un impacto negativo en la producción ovina, debido a una baja de la fertilidad de la majada, acortamiento de la vida reproductiva de los machos con descarte de los mismos, abortos en hembras, aumento de la mortalidad perinatal, restricciones en el comercio de reproductores, y gastos devenidos de las actividades de control que se lleven adelante.

La Brucelosis ovina fue descrita por primera vez en la Argentina en 1961 cuando Szyfres & Chappel aislaron *B. ovis* del semen de un carnero con epididimitis. En Patagonia, *B. ovis* fue aislada por primera vez por Cedro y col. (1963) en carneros de la Isla de Tierra del Fuego. Posteriormente la enfermedad ha sido reportada en diferentes localidades de la Patagonia (Robles y col 1990, 1991, 1993, 1998; Iglesias y col. 1994; Robles y Fabro, 1995; Gonzalez y Vaghi 2002).

A fin de aportar mayor información sobre la situación de la Brucelosis ovina en la Patagonia Argentina se presentan los resultados del análisis de la información diagnóstica de *Brucella ovis* en carneros, generada entre los años 1995 y 2010 en el Laboratorio de Brucelosis del INTA Bariloche.

Materiales y Métodos

Se recopilaron y analizaron los resultados serológicos obtenidos de muestras de sueros de carneros provenientes de las 5 provincias patagónicas, enviadas al Laboratorio de Brucelosis del INTA Bariloche, entre los años 1995 y 2010 por veterinarios de la actividad privada y del sector oficial, correspondientes a organismos provinciales como nacionales.

Para su procesamiento se utilizó un test de Elisa Indirecto desarrollado en el laboratorio de Brucelosis del INTA Bariloche. Brevemente: Se utilizaron microplacas de poliestireno de 96 pocillos en las que se pegó el antígeno (HS) de *B. ovis* a razón de 4 mcg por ml en buffer carbonato.

Se incubó a 27°C durante la noche y al día siguiente las placas fueron congeladas a -20°C hasta su uso.

Antes de usar las placas fueron descongeladas a temperatura ambiente, lavadas 3 veces con una solución de PBS+Tween 20. Inmediatamente de realizados los lavajes, se agregaron a cada placa 100µl de los sueros controles por duplicado (Positivo fuerte, positivo débil y negativo) y 100µl de los sueros problema, todos diluidos 1:50 en PBS-T-EDTA y se incubaron a 27°C durante 30 minutos. Terminada la incubación, las placas fueron lavadas tres veces con PBS-T y se les agregó 100µl por pocillo de un anticuerpo monoclonal conjugado con peroxidasa y se incubó a 27°C por 30 minutos. Tras la incubación, las placas fueron lavadas nuevamente tres veces con PBS-T y se les agregó 100µl por pocillo de una solución de sustrato/cromógeno compuesta por un bufer citrato, peróxido de hidrógeno y ABTS. Las placas fueron incubadas por 10 minutos a 27°C bajo agitación y se leyeron en un espectrofotómetro a 414 nm.

Todos los sueros con un PP=30 fueron considerados positivos.

Resultados

Se analizaron 181.495 muestras de suero provenientes de 758 establecimientos. En la Tabla 1 pueden observarse los resultados obtenidos para cada provincia.

Tabla 1. Distribución de los establecimientos analizados según provincias, con la cantidad y porcentajes de establecimientos positivos a *Brucella ovis*.

	Nº Establ.	Nº Establ. Positivos	% (+)
Río Negro	124	46	37.1
Neuquén	46	23	50.0
Chubut	191	122	63.9
Santa Cruz	234	182	77.8
T. Fuego	163	129	79.1
TOTAL	758	502	66.2 %

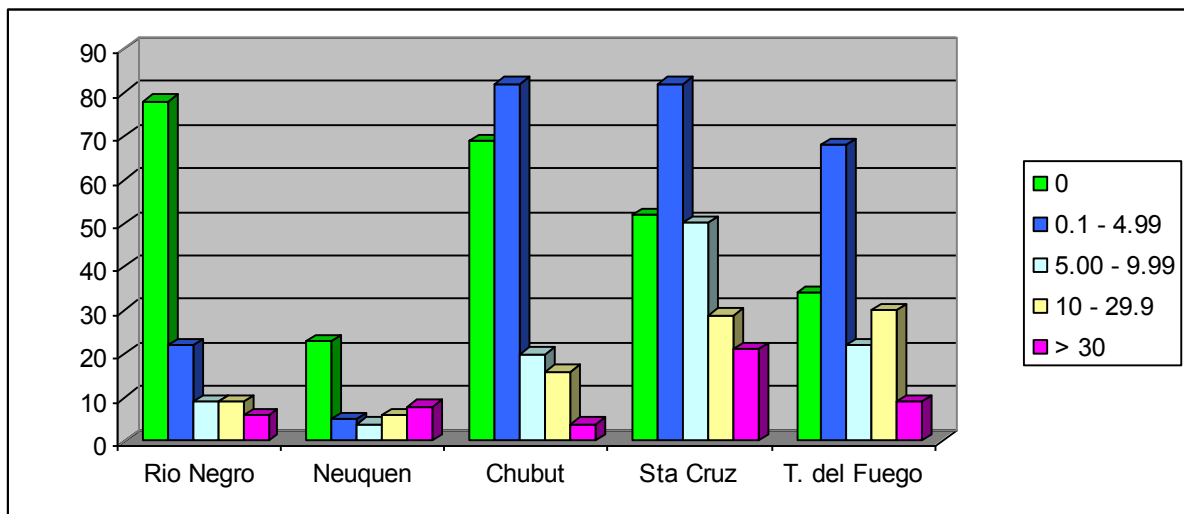
(*) Algunos establecimientos hicieron envío de muestras en 2 o más oportunidades, por lo que el valor de 758 establecimientos no es absoluto.

Tabla 2. Distribución de los sueros analizados según provincias, con la cantidad y porcentajes de sueros positivos a la serología de *Brucella ovis*.

	Nº sueros	Nº sueros Positivos	% (+)
Río Negro	8321	454	5.5
Neuquén	1506	115	7.6
Chubut	64979	2339	3.6
Santa Cruz	52832	4335	8.2
T. Fuego	53857	3323	6.2
TOTAL	181495	10566	5.8 %

Cuando se clasificó y estratificó a nivel de cada provincia los establecimientos según las prevalencias intra predios halladas, pudieron observarse diferentes perfiles de presentación de la enfermedad entre todas las provincias (Gráfico 1).

Gráfico 1. Estratificación de los establecimientos de cada provincia, según los 5 niveles de prevalencia definidos.



Discusión

Este trabajo confirma la presencia de brucelosis en carneros por *Brucella ovis* en las provincias de Chubut, Santa Cruz y Tierra del Fuego donde ya estaba descrita, agregándose en esta oportunidad las provincias de Río Negro y Neuquén, de las cuales no hay información publicada hasta el presente.

Las prevalencias a nivel de carneros infectados varió entre un 3.6% a un 8.2% según provincias promediando un 5.8% para la Patagonia en su conjunto. El hecho de que el 66.2% de los establecimientos analizados estén infectados, coloca a la Patagonia en una situación preocupante, en cuanto a la difusión de la enfermedad en la región. Asimismo llama la atención la disparidad observada en cuanto a los niveles de prevalencia intra-predio, siendo muy preocupante la existencia de establecimientos con más del 30% de los carneros infectados.

En vista de los resultados hallados, se considera que es urgente la necesidad de adjudicarle prioridad a la realización de estudios epidemiológicos en toda la Patagonia y a elaborar un programa de control de la

Brucelosis ovina para toda la región, con la participación de las cinco provincias afectadas.

Bibliografía

- Gonzalez, N.; Vaghi, C. 2002. Brucelosis ovina: diagnóstico serológico en establecimientos de la Patagonia. Reunión de la AAVLD. Villa General Belgrano, Córdoba.
- Iglesias, R.; Tapia, H.; Batarev, S. 1994. Relevamiento de Brucelosis ovina en carneros de la provincia de Santa Cruz. Rev. Arg. Prod. Animal, Vol 14, Supl 1. pág 137.
- Robles, C.A.; Urcullú, J.; Uzal, F.A. 1987. Epididimitis en carneros en dos establecimientos ganaderos de la provincia de Santa Cruz. Informe final - INTA-EEA Bariloche.
- Robles, C. A; La Torraca, A; Sancholuz, M; Uzal, F A; Evans, E. 1993.- Brucelosis ovina en majadas Merino de la provincia de Chubut, Argentina. Vet. Arg. 10 :458-461.
- Robles, C.A.; Uzal, F.A.; Olaechea, F.V.; Low, C. 1998. Epidemiological observations in a corriedale flock affected by *Brucella ovis*. Veterinary Research Communications, 22: 435-443.

ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS ASOCIADOS A LA BRUCELOSIS OVINA EN TIERRA DEL FUEGO

Martínez, A.¹; Estein, S.²; Robles, C.¹

¹Grupo Salud Animal- INTA EEA Bariloche; ²Catedra de Inmunología-FCV UNCPBA

Introducción

La brucelosis ovina, causada por *Brucella ovis*, es una enfermedad infecciosa que afecta principalmente a los machos, alterando su salud reproductiva.

En Argentina la brucelosis ovina es considerada una de las principales causas de problemas reproductivos en carneros, generando pérdidas económicas debido a la menor tasa de señalada, restricciones en el comercio de reproductores, mayor descarte de carneros y retraso de los programas de mejoramiento genético. Diversos estudios demostraron que la enfermedad estaba difundida en todas las regiones del país con actividad ovina. En las provincias Patagónicas se han documentado prevalencias entre el 4% y el 20%. El conocimiento sobre cómo influyen algunos factores en la presencia de la enfermedad, sería de utilidad para la implementación de los programas de control.

En el año 2006 se implementó el primer Programa de Control de Brucelosis Ovina en el país. El mismo se llevó a cabo en la Provincia de Tierra del Fuego, en un esfuerzo conjunto entre el gobierno de Tierra del Fuego, el INTA Bariloche, los Veterinarios de la actividad privada de la Isla y la financiación de la Ley de Recuperación Ovina. El programa consistió en la revisión clínica y sangrado de todos los machos y el descarte de aquellos que resultan positivos a las pruebas diagnósticas.

Con el objetivo de caracterizar la presentación de la enfermedad en establecimientos enmarcados en el Programa Provincial de Control de la Brucelosis Ovina se realizó el análisis de los datos obtenidos durante al año 2009.

Materiales y Métodos

Se trabajó con datos correspondientes a 10.387 ovinos machos, provenientes de 22 establecimientos ganaderos que participaron, en forma voluntaria, del Programa Provincial de Control de Brucelosis Ovina.

La revisión clínica se realizó mediante el método descrito por Robles (2004).

Los análisis serológicos para la determinación de anticuerpos contra *Brucella ovis*, fueron realizados en el Laboratorio de Serología del INTA Bariloche, utilizando un enzoinmunoensayo indirecto (ELISAI) (Robles, 2009).

Se analizó la distribución de la enfermedad, calculando la prevalencia (a) por

establecimiento; (b) por franja etaria, (c) según la raza y (d) según la categoría del animal (carnero o retajo). Luego se relacionó la prevalencia con cada factor estudiado.

La relación entre prevalencia y tamaño de la majada, se determinó luego de calcular las prevalencias de los establecimientos previamente clasificados según el número de carneros adultos en: (a) "establecimiento pequeño" a los predios que contaban con menos de 100 animales, (b) "establecimiento mediano" entre 101 y 500; y (c) "establecimientos grandes" con más de 501 animales. Para la determinación de asociación entre el ELISAI y los demás factores estudiados se utilizó la prueba estadística de Chi-cuadrado empleando el software MEDCALC® Ver. 9.6.0.0.

Por último, se calculó el índice de concordancia entre el ELISAI y la revisión clínica. Para ello se calculó el valor del índice Kappa usando el software Win Episcope 2.0

Resultados

Los resultados obtenidos dan cuenta que la enfermedad se encuentra ampliamente difundida en los establecimientos de la provincia. Aunque la prevalencia promedio resultó del 4,36%, hubo predios en donde el 29% de sus machos se diagnosticaron como positivos (Tabla 1).

Tabla 1. Establecimientos ordenados según prevalencia predial de *Brucella ovis*.

Establecimiento	Muestras	(+) a ELISAI	Prevalencia
1	72	0	0,00
2	230	0	0,00
3	249	0	0,00
4	221	1	0,45
5	1.219	7	0,57
6	2.103	17	0,81
7	345	3	0,87
8	1.004	10	1,00
9	81	1	1,23
10	283	4	1,41
11	58	2	3,45
12	662	23	3,47
13	1.274	45	3,53
14	201	8	3,98
15	117	5	4,27
16	70	4	5,71
17	794	47	5,92
18	341	32	9,38
19	86	9	10,47
20	490	99	20,20
21	125	30	24,00
22	362	106	29,28
TOTAL	10.387	453	4,36

Del análisis de los factores estudiados se concluye que la prevalencia de la enfermedad es superior en: a) los machos con mayor actividad sexual que en animales vírgenes o viejos, y b) en las razas europeas que en Merino (Tabla 2).

Tabla 2. Prevalencia de *Brucella ovis* según edad de los animales muestreados.

Edad	Nº de Cabezas	(%) por Edad	(+) a ELISAI	Prevalencia
DL	1.266	12,2	5	0,39
2D	1.361	13,1	16	1,18
4D	1.662	16,0	112	6,74
6D	2.217	21,3	117	5,28
>8D	3.881	37,4	203	5,23
TOTAL	10.387	100	453	-

En referencia al tamaño, los establecimientos medianos (101-500 carneros adultos) resultaron ser los más afectados ($p < 0,0001$) (Tabla 3).

Tabla 3. Prevalencia de *Brucella ovis* según tamaño de establecimiento.

Tamaño	Total de Establecimientos	(+) a ELISAI	Total de Animales	Prevalencia
Pequeño (<100)*	6	14	364	3,85
Mediano (101-500)*	10	248	2.080	11,92
Grande (>501)*	6	136	4.936	2,76
TOTAL	22	398	7.380	-

*Cantidad de carneros Adultos de 4D, 6D y >8D

Por el contrario, no se observaron diferencias en la prevalencia cuando se analizaron las categorías carnero vs. retajo ($p = 0,0749$).

El índice Kappa de concordancia entre ELISAI y la ocurrencia de animales que presentaron lesión clínica asociada a la infección por *B. ovis* fue de 0,193 (Tabla 4).

Tabla 4. Distribución de animales clasificados en positivo y negativo según prueba diagnóstica.

	Lesión asociada a <i>B. ovis</i>		Total
	Con lesión	Sin lesión	
ELISAI(+)	55	239	294
ELISAI(-)	120	3.820	3.940
Total	175	4.059	4.234

Discusión

El presente estudio abarca prácticamente la mitad de la población de carneros (10.387/19.010) y número de establecimientos

agropecuarios (EAP) (22/48), que crían ovinos en la provincia de Tierra del Fuego. La enfermedad se encuentra extensamente difundida en las majadas analizadas ya que el 86,3% de los establecimientos presentan al menos un reaccionante positivo a ELISAI. La prevalencia es de 4,36%; coincidiendo con los datos publicados de un establecimiento de la provincia de Santa Cruz donde utilizando la técnica de inmunodifusión en gel de agar (IGDA), encontraron prevalencias de 2,1%, 4% y 6,1% en tres años de estudio (Robles *et al.*, 1998).

Cuando se analizó la relación entre la prevalencia y la edad del animal, se obtuvieron bajos valores en animales vírgenes (0,79% en animales de DL y 2D) y altos (6,74%) en los animales de 4D, disminuyendo los porcentajes a medida que avanzan en edad. La presencia de animales vírgenes reaccionantes a ELISAI se puede deber a que la infección ocurre cuando estos se encuentran agrupados en el pre servicio junto con carneros adultos, que sodomizan a los jóvenes y de este modo los contagian.

El valor del índice Kappa entre la serología y la revisión clínica fue de 0,193 determinando la baja concordancia que existe entre ambos métodos. Valores superiores (Kappa = 0,26), fueron obtenidos por Robles *et al* (1998), comparando el test de IDGA y la presencia de epididimitis clínica, en un estudio realizado en la provincia de Santa Cruz, siendo igualmente un valor bajo de concordancia. Por otra parte investigadores en Uruguay y Chile, compararon al test de ELISA y alteraciones escrotales palpables, concluyendo también, que no existía correlación estadística entre ambas pruebas (Kappa = 0,36). La contundencia en la repetitividad de los resultados demuestra la complejidad del diagnóstico de la enfermedad, donde existen animales infectados detectados por serología, pero que aún no han desarrollado alteraciones clínicas; como también la posibilidad de presentar epididimitis u otro signo palpable sin generar anticuerpos específicos detectables, ya sea porque las alteraciones fueron producto de la infección de otros agentes etiológicos o por causas traumáticas.

Bibliografía

- Budlle, M.B. 1956. Studies on *Brucella ovis* (n. sp.) a cause of genital disease of sheep in New Zealand and Australian. The Journal of Hygiene. 54, 351-364.
- Robles, C.A. 2004. Salud reproductiva del carnero. INTA, EEA Bariloche. ISBN:987-521-039-0.
- Robles, CA; Uzal, FA; Olaechea, F; Low, C. 1998. Epidemiological observations in Corriedale flock affected by *Brucella ovis*. Veterinary Research Communications. 22, 435-443.

EVALUACION DE UN KIT DE ELISA INDIRECTO PARA EL DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO DE *Brucella ovis*

Robles, C.A.; Chodilef, M.M.
INTA Bariloche

Introducción

La brucelosis ovina es una enfermedad infecciosa de curso crónico producida por *Brucella ovis* la cual tiene amplia difusión en el país en todas las regiones donde se crían ovinos.

En Patagonia, tras analizar 181.495 muestras de suero enviadas al INTA para diagnóstico de rutina, provenientes de 758 establecimientos, se determinó que el 60% de los establecimientos tenían al menos un animal positivo y que el 5.8% de los animales estaban infectados.

A partir de que en nuestro país no hay una vacuna aprobada para prevenir la infección por este agente, el control de la enfermedad, se basa en la detección y descarte de los animales infectados. Para ello se utilizan técnicas diagnósticas basadas en la detección de anticuerpos contra el agente causal, como son la Inmunodifusión en gel de agar, la Fijación del complemento y el Elisa indirecto. El objetivo de este estudio, fue el de evaluar bajo condiciones epidemiológicas locales el comportamiento de un kit de Elisa indirecto comercial (Ingezim *Brucella ovis*, Ingenasa®) producido en el extranjero.

Materiales y Métodos

Se utilizó una colección de 123 sueros positivos obtenidos de carneros infectados naturalmente y con aislamiento de *Brucella ovis* del semen, sin serología previa, que fueron analizados por duplicado y 704 sueros negativos provenientes de establecimientos históricamente libres o que llevan como mínimo 3 años como negativos. La prueba se realizó siguiendo las instrucciones del fabricante. Brevemente: sobre la microplaca de 96 pocillos, que viene con el antígeno pegado, se agregaron 100ul de los sueros problema diluidos 1:100 y 100ul de los sueros controles que ya vienen diluidos. Se incubó a 37°C por 60 minutos, sin agitar. Terminada la incubación se lavaron las placas 4 veces con solución de lavado. Se sembraron 100ul del conjugado por pocillo, se cubrió la placa y se incubó a 37°C por 30 min. Se lavaron las placas 6 veces con solución de lavado y se agregaron 100ul del sustrato-cromógeno a cada pocillo. Se incubaron por 10 minutos a temperatura ambiente y en oscuridad, tapando la placa con papel aluminio. Una vez completados los 10 minutos, se agregó sobre el sustrato-cromógeno, 100 ul de la solución de frenado. Dentro de los 5 minutos de agregada

la solución de frenado se leyó la placa en espectrofotómetro con filtro de 450 nm.

Para determinar la sensibilidad y especificidad de la prueba y determinar el punto de corte se utilizó la técnica de ROC curve (MedCalc, Ver 13.1). Todos los valores de densidad óptica (DO) obtenidos de cada suero en cada placa fueron transformados a porcentajes. Para ello el valor de la DO de cada suero se dividió por la DO del suero control positivo de la placa correspondiente y se multiplicó por 100.

Figura 1. Aspecto final de una microplaca de Elisa con mayoría de sueros negativos.

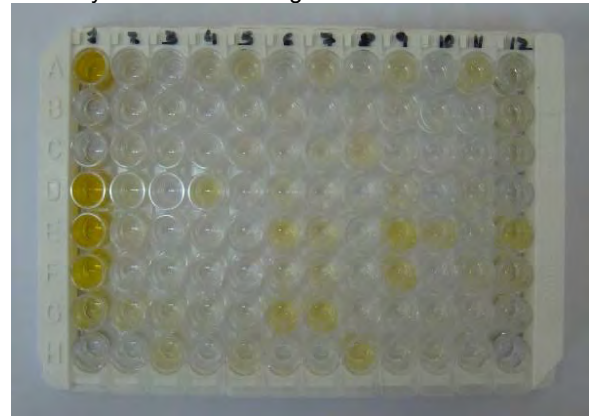
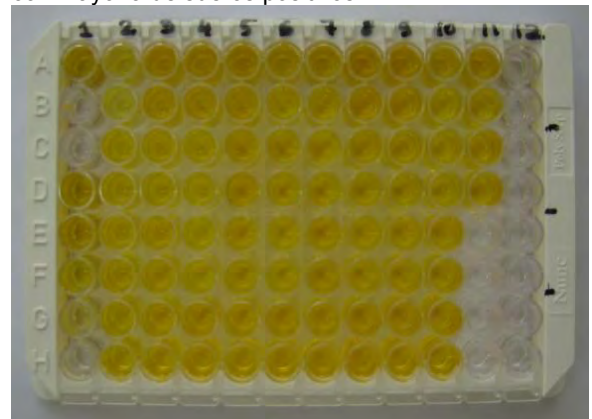


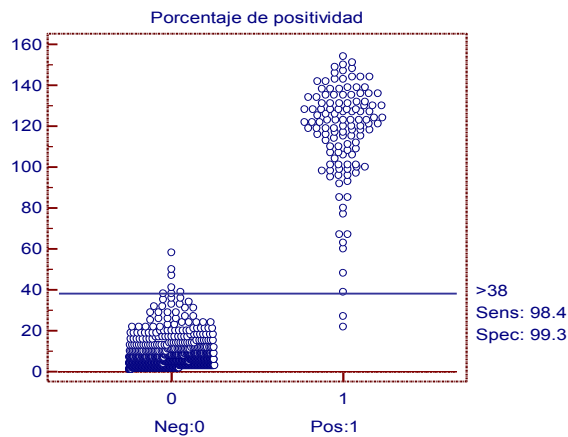
Figura 2. Aspecto final de una microplaca de Elisa con mayoría de sueros positivos.



Resultados

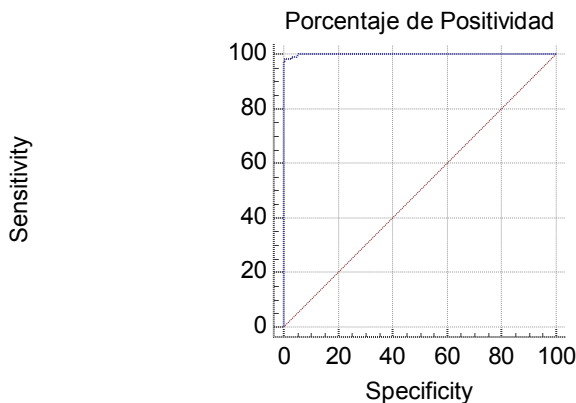
En la Figura 3 se puede observar la distribución de la totalidad de los sueros analizados.

Figura 3. Distribución de los sueros de carneros de campos libres (Neg) y de carneros con aislamiento de *Brucella ovis* (Pos).



En la Figura 4 puede observarse la curva de ROC con un punto de corte de PP=38. El área bajo la curva de ROC (AUC) fue de 0.999 con un valor de $p < 0.001$.

Figura 4. Curva de ROC.



Sensibilidad y Especificidad del Kit: analizados el total de los sueros se obtuvo una sensibilidad del 98.4% y una especificidad del 99.3% tomando el punto de corte de 38%, resultante del análisis de ROC.

Repetibilidad y cálculo del Coeficiente de variación (CVar) de los controles positivo y negativo del KIT. En la siguiente tabla se presentan los valores promedio, desvío estándar y coeficiente de variación, que arrojaron los sueros controles positivo y negativo provistos en el Kit tras ser analizadas 11 microplacas.

Suero	Suma	Prom.	DE	CVar
Control (+)	26.563	2.415	0.319	13.23
Control (-)	0.631	0.057	0.002	3.09

Repetibilidad y cálculo del Coeficiente de variación de los sueros positivos evaluados: Los 123 sueros de la colección de positivos, arrojaron una densidad óptica (DO) promedio de 2.581, con un desvío estándar promedio de

0.08 y un coeficiente de variación promedio de 3.42.

Discusión

La ejecución de la prueba resultó sencilla, tanto para la evaluación de unos pocos sueros en una tira, como para su utilización a placa completa. Usando el punto de corte de 30% sugerido por el fabricante, se obtiene una sensibilidad del 98.37% y una especificidad del 97.58%, mientras que aplicando el punto de corte de 38% que surge de este estudio, si bien se mantienen los valores de la sensibilidad, mejoró la especificidad, obteniendo valores comparables a otros test de Elisa comerciales y artesanales en uso (Marin y col, 1989; Gall y col, 2003). El Coeficiente de variación (CVar) del suero control negativo fue bueno, sin embargo el CVar para el suero control positivo fue un tanto alto, por lo que habría que analizar en profundidad el comportamiento del mismo para determinar las posibles causas de este fenómeno y en todo caso evaluar el cambio del suero control del Kit. El CVar promedio obtenido con los 123 sueros positivos analizados, indica que el Kit tiene una buena repetibilidad intra placa por lo que no sería necesario analizar los sueros por duplicado en la rutina diaria de diagnóstico. Se concluye que el Kit demostró un funcionamiento correcto, sólido, con resultados claros al momento de la lectura, con un background muy bajo, lo que lo hace recomendable su uso para tareas de diagnóstico de rutina como así también para ser aplicado en programas de control de la brucelosis ovina a nivel de establecimiento.

Bibliografía

- Buddle, M.B. 1956. Studies on *Brucella ovis*, a cause of genital disease of sheep in New Zealand and Australia. The Journal of Hygiene, Vol 54 :351-364.
- Robles, C.A. 1998. Epididimitis contagiosa de los carneros por *Brucella ovis*. Rev. Med. Vet. Vol 79 (1) :67-71.
- Gall, D.; Nielsen, K.; Vigliocco, A.; Smith, P.; Prez, B.; Rojas, X.; Robles, C. 2003. Evaluation of an indirect Enzyme-linked Immunoassay for the presumptive serodiagnosis of *Brucella ovis* in sheep. Small Ruminants Research. 48 : 173-179.
- Nielsen, K.; Smith, P.; Yu W.L.; Rojas, X.; Perez, B.; Conde, S.; Samartino, L.; Robles, C. 2007. Detection of Ovine Antibody to *Brucella ovis* by Indirect Enzyme Immunoassay. J Immunoassay Immunochem, 28(3):243-50
- Marin, C. M.; Jimenez de bagues, M.P.; Blasco, J.M.; Gamazo, C.; Moriyon, I.; Diaz, R. 1989. Comparison of three serological tests for *Brucella ovis* infection of rams using different antigenic extracts. The Veterinary Record, 125 :504-508.

BRUCELOSIS OVINA: DIAGNÓSTICO MOLECULAR EN PATAGONIA

Alvarez, L.P.^{1,2}; Marcellino, R.²; Robles, C.A.²
¹IPATEC-CONICET; ²Grupo de Salud Animal, INTA Bariloche

Introducción

La brucelosis ovina en Patagonia es causada por *B. ovis*. Esta enfermedad genera infertilidad y el descarte temprano de los carneros, produciendo un impacto negativo en aquellos países donde la cría de ovinos es una actividad económica importante, ya que genera una caída de la fertilidad de la majada, un aumento en el descarte de los carneros por estar infectados, abortos en el último tercio de la preñez, aumento de la mortalidad perinatal, pérdida de carneros con alto valor genético, complicaciones en el manejo y restricciones en el comercio. En Argentina, la brucelosis ovina fue diagnosticada en Mesopotamia, Pampa húmeda y Patagonia (Iglesias *et al.*, 1994), siendo esta última la región donde la cría ovina adquiere su máxima importancia, contando con más del 60% de las existencias ovinas del país. Respecto a la presencia y difusión de *B. ovis* en Patagonia, el GSA del INTA Bariloche realizó un estudio sobre 181.621 muestras de suero enviadas a sus laboratorios para el diagnóstico de *B. ovis* durante el periodo 1995-2010. El análisis de los resultados reveló que el 37,1% de los establecimientos en Río Negro, el 50% en Neuquén, el 63,5% en Chubut, el 77,8% en Santa Cruz y el 79,1% en Tierra del Fuego estaban infectados, siendo esta prevalencia de las más altas registradas a nivel mundial. En este mismo estudio, sobre el total de sueros analizados, 10.570 (5,82%) resultaron positivos a *B. ovis*. Actualmente el control de la brucelosis ovina se basa en el diagnóstico y posterior descarte de animales infectados. Sin embargo, los métodos de diagnóstico que se utilizan en la actualidad que incluyen la revisión clínica, el aislamiento del agente causal mediante cultivo bacteriológico (estándar de oro) y la detección de anticuerpos por serología, presentan limitaciones. Con respecto al aislamiento de *B. ovis* a partir de muestras de semen mediante cultivo bacteriológico, si bien es considerado el estándar de oro, es muy laborioso debido al trabajo que demanda la obtención de la muestra y el tiempo que requiere el cultivo, lo que impide la obtención rápida de un resultado para su aplicación a campo. Además, esta prueba puede fallar debido a que: a) existen animales que eliminan *B. ovis* de forma intermitente a través del semen, por lo que deben hacerse tres o cuatro extracciones de semen con una semana de intervalo; b) existen problemas en la recolección de semen en condiciones de campo, debido a

contaminaciones que pueden ser producidas por microorganismos provenientes tanto del ambiente como de la flora del prepucio; c) las muestras recolectadas deben ser frescas y llegar al laboratorio lo más rápido posible para evitar la pérdida de viabilidad de las bacterias presentes. En los últimos años se ha intentado mejorar el diagnóstico mediante el uso de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La PCR es una técnica sensible, rápida, específica y no requiere de muestras frescas, es decir, permite la detección de la bacteria sin la necesidad de que la misma esté viable.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar una PCR como método diagnóstico directo de *B. ovis* sobre muestras de semen de carneros infectados naturalmente y su comparación con cultivo bacteriológico que es considerado el estándar de oro.

Materiales y Métodos

La PCR se ensayó sobre semen de animales libres de brucelosis y sobre ADN de *B. abortus*, *B. melitensis*, *Histophilus somni* y *Actinobacillus seminis* como controles negativos. Como control positivo se utilizó ADN aislado de colonias de *B. ovis*. El ADN se obtuvo a partir de 500 μ l de semen por el método del fenol-cloroformo. Se midió la concentración de ADN y la absorbancia a 260 nm (A260) y 280 nm (A280) en Nanodrop 2000 Spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific), y se determinó la pureza del ADN obtenido por medio del cálculo de la relación A260/A280. Las muestras se almacenaron en freezer a -20°C hasta su procesamiento. Se realizaron PCRs utilizando cebadores específicos para el gen BOV_A0500 (F: 5'-GCC TAC GCT GAA ACT TGC TTT TG-3' y R: 5'-ATC CCC CCA TCA CCA TAA CCG AAG-3') (Tsolis *et al.*, 2009). Las reacciones de PCR se llevaron a cabo con una mezcla de 200 μ M dNTP, 0.5 μ M de cada cebador, 1.25 U Taq DNA polimerasa y 100 ng de ADN en un volumen de 25 μ L. Los parámetros de amplificación fueron: 95 °C por 5 min, seguidos de 30 ciclos de 95 °C por 30 s, 60 °C por 30 s, y 72 °C por 30 s, con un paso final a 72 °C por 5 min. Para el cultivo bacteriológico se sembraron 200 μ l de semen en placas de Agar Thayer Martin (agar sangre Columbia con el agregado de 7% de sangre entera ovina con heparina como anticoagulante, y de los antibióticos Vancomicina 3 μ g/ml, Colistina 7.5 μ g/ml, Nistatina 22 μ g/ml y Nitrofurantoína 10 μ g/ml) y Agar Sangre. Las placas se incubaron a 37°C

con 20% CO₂ durante 10 días. Se realizó la tinción de Gram y pruebas bioquímicas a las colonias que presentaron morfología compatible con *Brucella spp.* Los cocobacilos pequeños Gram negativos, catalasa + y acriflavina + fueron identificadas como *B. ovis*.

Resultados

Los resultados muestran que la PCR descrita fue capaz de detectar *B. ovis* en el 72% de las muestras, mientras que la bacteriología detectó *B. ovis* en un 56% de las muestras analizadas.

Figura 1. PCR de *B. ovis* sobre muestras de semen. Productos de PCR obtenidos sobre ADN de muestras de semen. Calle M: Marcador de PM. Calle 1 a 9: muestras de semen de carneros con sospecha de brucelosis ovina. Calle 10: control negativo. Calle 11: control positivo.

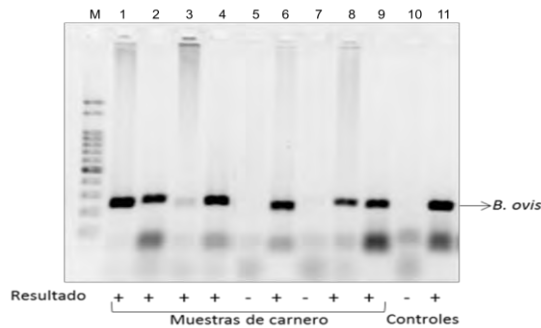


Tabla 1. Comparación de métodos: cultivo y PCR. Porcentaje de muestras positivas y negativas por cultivo bacteriológico y PCR. Concordancia entre métodos: Kappa = 0,654. *Diferencia en la frecuencia de muestras positivas por PCR y bacteriología, Test de Fisher, *p<0.0001.

	Cultivo +	Cultivo -	Total
PCR +	56%	16%	72%
PCR -	0%	28%	28%
Total	56%	44%	100%

El 100% de las muestras tomadas de carneros sanos fueron negativas tanto al cultivo como al diagnóstico molecular. Todas las muestras positivas por cultivo resultaron positivas al diagnóstico molecular (sensibilidad de la PCR con respecto al cultivo = 100%). Sin embargo, el 16% de las muestras fueron negativas al cultivo, pero positivas a la PCR. La concordancia entre los métodos diagnósticos fue buena (Kappa = 0.654), mientras que la diferencia en la frecuencia de muestras positivas por PCR y bacteriología fue significativa (Test de Fisher, p<0.0001). La PCR evaluada demostró ser específica para *B. ovis* y fue capaz de detectar hasta 0,01 ng de ADN.

Discusión

En 1987 fue introducido el diagnóstico por PCR de *Brucella spp.*, y desde esa época numerosos investigadores han realizado progresos en el desarrollo de estos tests: el desarrollo de PCRs que permiten la identificación específica de *Brucella spp.* respecto de otras especies cercanas filogenéticamente; el desarrollo de PCRs para la diferenciación entre especies del género *Brucella*; el diseño de PCRs para identificar una especie en particular del género *Brucella* en cabras, carneros y humanos infectados; y el desarrollo de PCRs múltiples para la diferenciación entre diferentes especies del género *Brucella* y entre otras especies de bacterias Gram negativas que causan epididimitis. Sin embargo, la mayoría de estos métodos no han sido establecidos para su uso en el laboratorio de diagnóstico.

La PCR presentada en este trabajo detectó ADN de *B. ovis* en un mayor número de muestras que el cultivo. No se detectó *B. ovis* en muestras de animales libres de brucelosis. Todas las muestras positivas al cultivo fueron positivas a la PCR (sensibilidad de la PCR con respecto al cultivo 100%). El 16% de las muestras fueron negativas al cultivo, pero positivas a la PCR. La concordancia entre los métodos diagnósticos fue buena (Kappa = 0.654), mientras que la diferencia en la frecuencia de muestras positivas por PCR y bacteriología fue significativa (Test de Fisher, p<0.0001).

Conclusión

La PCR diagnóstica fue capaz de detectar *B. ovis* en muestras de semen con alta sensibilidad y especificidad, además de ser un método rápido y económico. Sin embargo, la bacteriología es el Gold Standard, por lo que se propone utilizar ambos métodos complementariamente para abordar el diagnóstico de la brucelosis ovina.

Bibliografía

- Brown, G. M., C. R. Ranger, and D. J. Kelley, 1971. Cornell Veterinary 61, 265-280.
- Iglesias R., Tapia R., Batarev S., 1994. Relevamiento de Brucelosis ovina en carneros de la provincia de Santa Cruz. Revista Argentina de Producción Animal., Vol. 14, pp. 137-146.
- Robles, C.A., Uzal, F.A., Olaechea, F.V., Low, C., 1998. Veterinary Research Communications 22, 435-443.
- Xavier, M.N., Silva, T.M., Costa, E.A., Paixao, T.A., et al., 2010. Veterinary Microbiology 145, 158-164.

EVALUACIÓN DE UNA PCR EN TIEMPO REAL PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA BRUCELOSIS OVINA EN PATAGONIA

Homse, M.S.¹; Alvarez, L.P.²; Robles, C.A.³

¹Universidad Nacional del Comahue; ²IPATEC, CONICET Bariloche; ³Grupo de Salud Animal INTA Bariloche

Introducción

La brucelosis ovina es una enfermedad infecto-contagiosa producida por *Brucella ovis*, que afecta la producción ovina. Genera una caída de la fertilidad de la majada, abortos en el último tercio de la preñez, un aumento en el descarte de los carneros por estar infectados y pérdida de carneros con alto valor genético. En Argentina, la Patagonia es la región con la mayor cantidad de existencias ovinas del país y, según un estudio de prevalencia realizado por Robles y colaboradores, es la región de mayor prevalencia de brucelosis ovina (37,1% de establecimientos en Río Negro, el 50% en Neuquén, el 63,5% en Chubut, el 77,8% en Santa Cruz y el 79,1% en Tierra del Fuego estaban infectados). Por ser una enfermedad crónica, el control de la brucelosis ovina se basa en el diagnóstico y posterior descarte de animales infectados. El cultivo bacteriológico es el método diagnóstico considerado estándar de oro, sin embargo presenta ciertas limitaciones como el tiempo que demanda hasta obtener un resultado y la posible contaminación de muestras, entre otros. En los últimos años, se ha intentado mejorar la detección de *Brucella spp.* mediante el desarrollo de técnicas basadas en biología molecular, como la Reacción en Cadena de la Polimerasa en Tiempo Real (qPCR). Esta técnica se basa en la acumulación de un producto amplificado (por ejemplo, una secuencia específica de ADN) el cual, mediante el agregado de una molécula fluorescente, puede ser detectado y medido mientras la reacción progresa. Además, esta técnica también se la utiliza como método diagnóstico, sobre todo gracias a su corto tiempo de extensión. El objetivo de este estudio fue evaluar una qPCR para *B. ovis* sobre muestras de semen de carneros y compararla con el cultivo bacteriológico.

Materiales y Métodos

Se trabajó con 43 muestras de semen provenientes de carneros con aislamiento positivo para *B. ovis* y 17 muestras de un establecimiento libre de brucelosis ovina. A todas las muestras se les realizó la extracción de ADN por dos métodos descriptos por Alvarez y Robles: 1) A partir de 25 µl de semen por el método de Chelex y 2) a partir de 500 µl de semen por el método de Fenol-Cloroformo. Se diseñó una Reacción en Cadena de la Polimerasa en Tiempo Real (qPCR), cuyos cebadores fueron diseñados de modo que

amplifiquen un fragmento de 100 pb, para poder obtener una reacción de amplificación con una eficiencia adecuada (mayor al 90%) y una curva estándar lineal ($R^2 > 0.980$). Los cebadores utilizados fueron, BOV_A0500 Fw: 5'-CCGGTGAGTGGTATCTT-3' y BOV_A0500 Rv: 5'-CCACAATCGACAGACATTCG-3'.

La mezcla de reacción de la qPCR consistió de 10 µl de Sso Advanced Universal SYBR Green Supermix (BioRad), 1 µl de una solución de 10 µM de cada cebador, 1 µl de templado de ADN y 7 µl de agua libre de nucleasa, en un volumen final de 20 µl. Como control positivo se utilizó 1 µl de ADN de *B. ovis*. Como controles negativos se utilizaron ADN de *Actinobacillus seminis* e *Histophilus somni*, bacterias que también causan epididimitis. Los parámetros de amplificación fueron: un ciclo de desnaturalización de 3 min a 98°C, seguido de 35 ciclos de 15 s a 98°C y 30 s a 60°C. Luego, se realizaron los ciclos correspondientes a la curva de Melting, que incluye una rampa de 65°C a 95°C con un incremento de 0.5°C y 2 s por paso.

La sensibilidad analítica de la qPCR se determinó sobre diluciones seriadas 1/10, a partir de una concentración de 100 ng/µl de ADN de *B. ovis* hasta una concentración de 0.001 ng/µl de ADN. Estos resultados fueron utilizados para generar una curva estándar, cuyos valores de eficiencia de amplificación (E) y coeficiente de determinación (R^2) fueron evaluados para determinar si el ensayo de qPCR fue óptimo. La especificidad analítica de la qPCR se determinó sobre los ADN de *A. seminis* e *H. somni*.

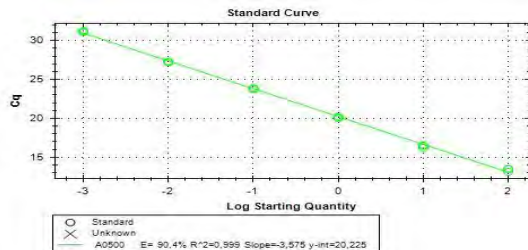
Se utilizó el programa MedCalc para realizar una curva de ROC para establecer el punto de corte que permite discriminar entre carneros positivos y negativos a *B. ovis*, al igual que los valores de sensibilidad y especificidad diagnósticas de cada qPCR respecto al cultivo bacteriológico.

Resultados

Tanto en la qPCR sobre ADN extraído mediante el método de Chelex (qPCR-CH) como en la qPCR sobre ADN extraído mediante el método de Fenol-Cloroformo (qPCR-FC), la sensibilidad analítica fue 0.01 ng/µl de ADN. La eficiencia de amplificación de ambas qPCR fue E=90.4% y el valor de $R^2=0.999$ (Gráfico 1). Además, ambas qPCR resultaron negativas al ADN de *H. somni* y *A. seminis*, mostrando de esta forma la

especificidad analítica de los cebadores elegidos.

Gráfico 1. Curva estándar, que grafica el logaritmo de la concentración inicial de ADN en función del ciclo umbral de detección. El valor de eficiencia (E) fue 90.4% y su valor de $R^2 = 0.999$.

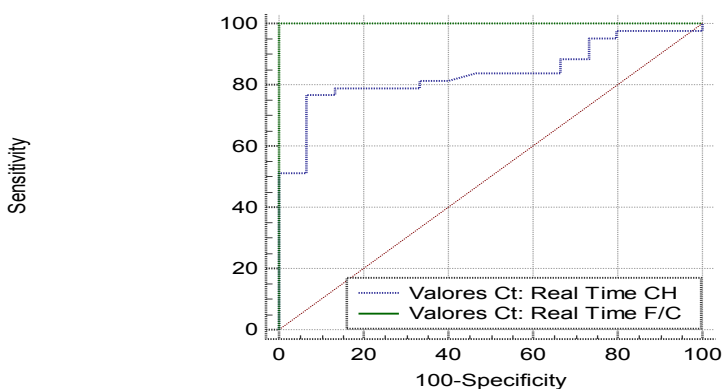


En la Tabla 1, se presentan los valores de punto de corte, sensibilidad y especificidad diagnósticas, y del área bajo la curva de ROC de cada qPCR, respecto al cultivo bacteriológico. Por otro lado, en el Gráfico 2 se comparan las curvas de ROC obtenidas en cada qPCR, las cuales presentan una diferencia en sus áreas bajo la curva de 0.162 ($P=0.0021$). El valor de punto de corte elegido en cada qPCR es aquél que más se aproxima a la esquina izquierda superior del Gráfico 2, con valores de sensibilidad y especificidad diagnósticas del 100%.

Tabla 1. Resultados de punto de corte, sensibilidad y especificidad diagnósticas, y valor del área bajo la curva de ROC, de cada qPCR respecto al cultivo bacteriológico.

	qPCR-CH	qPCR-FC
Punto de corte	31.07	30.62
Sensibilidad diagnóstica	76.7%	100%
Especificidad diagnóstica	93.7%	100%
Valor del área bajo la curva de ROC ($P<0.0001$)	0.838	1.000

Gráfico 2. Comparación de curvas de ROC de la qPCR-CH (curva verde) y la qPCR-FC (curva azul). Se grafican los valores de sensibilidad en función de los valores de especificidad, de cada punto de corte posible.



Discusión

El diseño de qPCR fue óptimo para la amplificación del fragmento de ADN de *B. ovis* elegido como cebador. Según los resultados obtenidos, la qPCR fue capaz de amplificar un 90.4% del templado en cada ciclo ($E=90.4\%$). Además, al obtener una regresión lineal en la curva estándar, se pudo corroborar que la eficiencia de amplificación fue la misma para diferentes concentraciones iniciales de ADN. Por otra lado, la qPCR-FC fue el ensayo de qPCR que mejor discriminó entre carneros positivos y negativos a *B. ovis*, al presentar un valor de área bajo la curva de ROC significativamente mayor respecto a la qPCR-CH. A su vez, en la qPCR-FC se obtuvieron altos valores de sensibilidad y especificidad diagnósticas.

En cuanto a la qPCR-CH, la baja sensibilidad diagnóstica obtenida pudo deberse a problemas de inhibición de la qPCR. Esto último pudo corresponderse con la obtención de un ADN de menor calidad con este método de extracción respecto al de Fenol-Cloroformo. Según Manuja y colaboradores, el semen posee células espermáticas y no espermáticas que pueden inhibir la qPCR, y bioquímicamente está compuesto por una gran cantidad de ADN y proteínas, por lo que el método de extracción elegido es importante para obtener ADN de buena calidad y así contribuir al éxito de la qPCR.

Conclusión

Los resultados de este estudio muestran que la qPCR-FC fue capaz de detectar *B. ovis* en muestras de semen con alta sensibilidad y especificidad diagnósticas, además de ser un método rápido y práctico. Por lo tanto, se propone a la qPCR-FC como técnica diagnóstica alternativa al cultivo bacteriológico en los casos en que se requiera un diagnóstico rápido o no se pueda asegurar la correcta conservación de las muestras. Además, para evitar la sospecha de falsos negativos, se propone agregar un control interno a la qPCR.

Bibliografía

- Alvarez L. P. y Robles C. A. 2016. Protocolo de extracción de ADN para la detección de *Brucella ovis* en semen. Comunicación Técnica, Área Producción Animal, INTA Bariloche, ISSN 1667-4006.
- Robles C.; Martínez A. y Chodilef M. 2012. Brucelosis ovina en Patagonia: Análisis de 15 años de diagnóstico en el laboratorio del INTA Bariloche. En XIX Reunión científica de la Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico.
- Manuja A.; Manchanda S.; Kumar B.; Khanna S. y Sethi R. K. 2010. Evaluation of different methods of DNA extractions from semen of buffalo (*Bubalis bubalis*) bulls. Buffalo Bulletin, 29(2):109-128.

BROTE ATÍPICO DE ECTIMA CONTAGIOSO EN OVINOS MERINO DE LA PATAGONIA ARGENTINA

Robles, C.¹; Peralta, A.²⁻³; Alvarez, L.¹⁻³; Martínez, A.¹

¹Grupo de Salud Animal, INTA Bariloche; ²Instituto de Biotecnología, INTA Castelar, ³CONICET

Introducción

El Ectima Contagioso es una enfermedad infecciosa de la piel y mucosas de los ovinos y caprinos, altamente contagiosa y debilitante, causada por un virus epiteliotrópico denominado Virus ORF.

El cuadro clínico se inicia con un eritema local en la piel, que evoluciona dando lugar a la formación de pápulas, luego a vesículas, éstas a pústulas para terminar en la formación de costras que cubren boca y narices. Eventualmente se pueden observar lesiones en otras áreas del cuerpo como vulva, escroto, prepucio, ubre, pezones y rodetes coronarios.

La enfermedad tiene un comportamiento epidémico, produciendo brotes anuales siendo más frecuente en animales jóvenes, aunque bajo ciertas circunstancias los animales adultos también pueden verse afectados.

Su distribución es mundial, afectando tanto a ovinos como a caprinos, aunque puede afectar a otras especies animales tanto domésticas como silvestres y además constituye una zoonosis.

En la Patagonia, está ampliamente difundida en ovinos y caprinos y produce brotes epidémicos de manera estacional en primavera/verano.

En este trabajo se presenta la información resultante del estudio de un brote de ectima contagioso ocurrido en ovinos de la raza Merino en un establecimiento ganadero en la Patagonia Argentina.

Materiales y Métodos

El establecimiento, dedicado a la cría mixta de ovinos y caprinos, está ubicado en el departamento de Pilcaniyeu en la provincia de Río Negro dentro del área ecológica de Sierras y Mesetas Occidentales.

El lote estaba compuesto por un total de 183 ovinos (152 borregas y 31 borregos), todos ellos diestra de leche, de la raza Merino de entre 8 y 9 meses de edad. Ninguno había sido vacunado contra ectima contagioso previamente y tampoco sus madres.

Se revisó clínicamente el total de los animales del lote, en busca de lesiones en orejas, ojos, nariz, boca, labios y encías, en los miembros a nivel del rodete coronario, en la zona perineal y en los órganos genitales: vulva, ubre y pezones en hembras y prepucio y escroto en machos.

De 9 animales con síntomas y lesiones de la enfermedad se tomaron muestras de costras de las lesiones presentes en morro, que fueron conservadas refrigeradas en una solución de PBS adicionada de 10.000U/ml de penicilina, 10mg/ml de estreptomina y 25ug/ml de anfotericina B hasta su arribo al laboratorio, donde fueron congeladas a -80°C hasta su procesamiento. En el laboratorio se procedió a la purificación del ADN y a la realización de una reacción de PCR con la finalidad de confirmar el diagnóstico clínico de campo.

Resultados

El brote se inició al comienzo del invierno en el mes de junio de 2013, afectando un lote de ovinos Merino jóvenes, en un establecimiento donde no se había presentado la enfermedad en al menos los últimos 5 años.

Clínicamente la lesión más llamativa fue la presencia de costras gruesas cubriendo los labios y los bordes de las fosas nasales, de color blanco-grisáceo, aunque en algunos casos eran de color marrón oscuro, seguramente por el sangrado de los tejidos por desprendimiento de costras (Foto 1). Las costras al intentar despegarlas, dejaban al descubierto una mucosa inflamada y muy sangrante. En algunos casos se detectaron lesiones costrosas en el rodete coronario de los miembros, tanto delanteros como traseros.

Foto 1. Lesiones costrosas en morro.



En un alto porcentaje (51,4%) se detectó conjuntivitis caracterizada por lagrimeo intenso y congestión de la conjuntiva (Foto 2), y la presencia de moco en ollares. Finalmente en algunos animales se detectaron llagas y lesiones sangrantes en encías (Foto 3).

Foto 2. Conjuntivitis con lagrimeo.**Foto 3.** Llagas en encías.

El detalle de las lesiones y signos registrados a la revisión clínica se pueden observar en la Tabla 1.

Tabla 1. Cantidad de animales y porcentajes de presentación de las diferentes lesiones y signos clínicos registrados durante la revisión clínica de los 183 ovinos durante el brote de ectima contagioso.

Lesiones/Área con lesiones	N animales afectados	% animales afectados
Costras en morro	179	97.8%
Conjuntivitis	95	51.4%
Lesiones en rodete coronario	27	14.8%
Moco en narices	24	13.1%
Congestión conjuntiva ocular	11	6.0%
Lagrimeo	5	2.7%
Llagas en encías	4	2.2%

Al momento del relevamiento del brote, 179 de los 183 corderos que componían el lote estaban afectados, lo que arrojó una morbilidad del 97.8%. La presencia de ADN del virus ORF fue confirmada mediante PCR sobre el gen ORF045 en las muestras de costras tomadas de los 9 ovinos seleccionados.

Discusión

La posible causa del brote surgió al realizar la anamnesis del caso. Allí se consignó que en el mes de marzo se había realizado la compra de un lote de 32 ovejas con crías, provenientes de la zona de Valcheta, localidad ubicada en el este de la provincia de Río Negro a 380 km del establecimiento problema. Los 31 corderos/as nacidos de ese lote, fueron juntados con los corderos/as locales en un mismo potrero, conformando el lote de 183 borregos/as analizado en este estudio. Se pudo saber que las ovejas madres ingresadas tenían lesiones residuales de ectima, por lo que se estima que fueron esas ovejas las que ingresaron la enfermedad al establecimiento y desencadenaron el brote a través de alguna de las dos vías de contagio que se describen para la enfermedad.

El alto porcentaje de animales afectados con la lesión clásica de costras en el morro (97.8%) y en menor medida en otras localizaciones puede explicarse por la alta sensibilidad de los animales del lote (borregas y borregos) porque no tuvieron exposición previa a la enfermedad ni fueron vacunados previamente contra el ectima contagioso.

La conjuntivitis (51.4%), congestión de la mucosa ocular (6%), lagrimeo (2.7%), secreción nasal (13.1%) y llagas en encías (2.2%), son signos y lesiones que no son descriptos frecuentemente para esta enfermedad.

En este caso sería la primera vez que se logra confirmar un brote de ectima contagioso en la Patagonia, mediante una reacción de PCR específica para el gen ORF045, la que ha demostrado ser una técnica rápida y efectiva facilitando así una pronta respuesta al productor y la implementación del tratamiento sintomático de los animales afectados ayudando a prevenir el contagio a otros lotes de animales del campo.

Bibliografía

- Reid H W y Rodger S M. ORF. En: Diseases of sheep. Ed. por I. D. Aitken. Blackwell Publishing, United Kingdom. 2007: 297-302. ISBN-13: 978-14051-3414-9.
- Yeruham I, Perl S, Abraham A. Orf Infection in Four Sheep Flocks. Vet Jour, 2000, 160:74-76.
- Nóbrega J, Macedo J, Araujo J, Dantas A, Soares M, Riet Correa F. Ectima contagioso em ovinos e caprinos no semi-árido da Paraíba. Pesq Vet Bras, 2008, 28:135-139.

BROTOS DE ECTIMA CONTAGIOSO EN MAJADAS OVINAS Y CAPRINAS DEL CENTRO-OESTE ARGENTINO: IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE VIRUS ORF

Rossanigo, C.E.¹; Peralta, A.²; Carosio, A.¹; Toselli, J.³ y Ashworth, J.⁴

¹Grupo Sanidad Animal INTA San Luis; ²CONICET/Instituto de Biotecnología INTA Castelar; ³Actividad privada. ⁴INTA AER Concarán

Introducción

El Ectima Contagioso también se conoce como boquera, epizootia, boca costrosa y dermatitis pustular contagiosa. Tiene un comportamiento epidémico, produciendo brotes anuales siendo más frecuente en animales jóvenes, aunque bajo ciertas circunstancias los animales adultos también pueden verse afectados. Es una enfermedad viral que afecta a ovejas, cabras, alpacas, camellos y otros rumiantes salvajes. Los humanos también pueden verse afectados a través del contacto con animales infectados y se han registrado casos ocasionales en perros que comen animales muertos infectados. La enfermedad es causada por un virus epiteliotrópico (Parapoxvirus), conocido como virus ORF, que se encuentra en lesiones cutáneas y costras de animales infectados y se cree que ingresa mediante contacto directo con cortes o abrasiones en la piel a través de secreciones y por objetos contaminados. El virus es muy resistente en el ambiente pudiendo permanecer en la lana y en el cuero durante aproximadamente un mes. Los signos y lesiones se detectan entre 3 a 7 días luego de la exposición al virus y por lo general, la herida sana por sí sola en 2 a 6 semanas sin dejar cicatrices. Los primeros signos son pequeñas protuberancias elevadas (pápulas), llagas y ampollas en los labios, morro, orejas y/o párpados de los animales y en algunos casos las lesiones aparecen en la nariz, alrededor de los ojos, patas, vulva, ubre y axila. En la boca de los lactantes puede impedir el amamantamiento por las lesiones dolorosas y causar pérdida de peso, y además puede infectar los pezones y la ubre de la madre, dando lugar a la mastitis. En casos raros, las lesiones se encuentran en la lengua, encías, techo de la boca, el esófago y en ocasiones con lesiones en el rumen. El presente resumen describe dos brotes que afectaron a majadas ovina y caprina en establecimientos del centro-oeste del país

Materiales y Métodos

Los brotes se presentaron en majadas sin antecedentes de haber aplicado la vacuna viva atenuada frente al Ectima contagioso. El brote ovino se presentó en julio en un establecimiento sito en Huinca Renancó (Córdoba) en una majada compuesta por 28 ovejas cruce Corriedale x Pampinta y 16 corderos de menos de 60 días. En las ovejas

adultas las lesiones se presentaban en boca, ubre y pezones, mientras que los corderos presentaban lesiones vesiculares y costrosas de diferente magnitud en la boca, labio y nariz. En ambas categorías no se observaron lesiones en rodete coronario de las pezuñas, oreja, párpados, conjuntiva ocular y órganos genitales. El brote en el ganado caprino se presentó en agosto una majada que se encontraba en época de servicio en de la localidad de Concarán (San Luis), donde la enfermedad se observó en dos animales adultos (un macho y una cabra) de un total de 50 cabras adultas y en dos cabritos muertos por inanición de un total de 20.

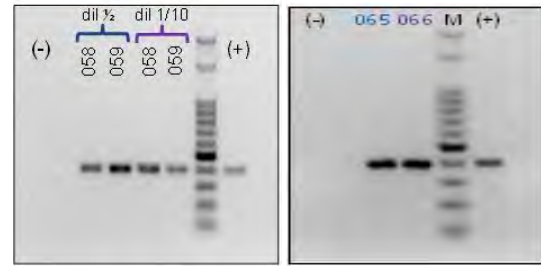


En todos los casos se tomaron y conservaron en -70°C costras de las lesiones típicas en labio para la confirmación del diagnóstico clínico siguiendo las instrucciones del kit QIAamp DNA, para la extracción de ADN.



para la presencia del virus ORF, agente causal del Ectima contagioso (Figura 1).

Figura 1. PCR diagnóstica para Ectima ovino y caprino.



Discusión y Conclusión

A pesar que en ambos brotes no se pudo comprobar el ingreso de la enfermedad a través de animales portadores del virus, queda claro el mayor porcentaje de animales afectados en el brote ovino comparado con el caprino, demostrando la mayor sensibilidad de estos animales como lo reportaron otros autores. La época de presentación de ambos brotes (invierno) concuerda también con los reportes realizados por otros autores en el sentido que los meses fríos son más predisponentes para la aparición de la enfermedad. Mediante la prueba de PCR se confirmó molecularmente la presencia de ADN del mismo virus ORF en las muestras de costras de ambas especies, confirmando la hipótesis de que el mismo virus afecta a estas dos especies.

Bibliografía

- Fenner, F.; Gibbs, E.; Murphy, F.; Rott, R.; Studdert, M.; White, D. 1993. *Veterinary Virology*. Ed. By Academic Press, 2nd edition, USA. 666 pág.
- Kottaridi, C.; Kyriaki Nomikou, K.; Teodori, L.; Savini, G.; Lelli, R.; Markoulatos, P.; Mangana O. 2006. Phylogenetic correlation of Greek and Italian orf virus isolates based on VIR gene. *Veterinary Microbiology*, 116: 310–316.
- Peralta, A.; Calamante, G.; Robles, C.; König, G. 2013. Identificación molecular de virus ORF en lesiones vesiculares de cuatro ovinos de la Provincia de Río Negro. Resúmenes Reunión Científica Anual de la Sociedad Argentina de Virología. (Buenos Aires).
- Robles, C.; Peralta, A.; Martínez, A.; Calamante, G.; König, G.; Álvarez, L. 2014. Brote atípico de ectima contagioso en ovinos merino de Patagonia. Resúmenes Virología XX Reunión de la AAVLD (Tucumán).

En primer lugar se determinó la integridad del ADN obtenido (mediante electroforesis en gel de agarosa) y luego se procedió a realizar la PCR diagnóstica basada en la amplificación del gen ORF045 con la finalidad de confirmar el diagnóstico clínico, usando una dilución $\frac{1}{2}$ (1/5) y 1/10 de los ADN de las muestras. El tamaño esperado para el producto de PCR fue de 392pb y el marcador de peso molecular utilizado fue 100pb.

Resultados

A la revisión clínica del brote ovino se constató 8 ovejas (28,6%) afectadas con lesiones costrosas en ubre-pezones en el 75% de los casos y en boca-morro en el 25 % de las enfermas.

El 100% de los 7 corderos afectados (43,7%) presentaban lesiones costrosas en morro y labio. Las dolorosas lesiones costrosas en los corderos y sus madres dificultaban el amamantamiento. Todas las madres se recuperaron del brote mientras que la letalidad de los corderos fue del 14,3% (1/7). Las lesiones costrosas del brote en la majada de cabras se limitaban a boca y labio tan to en los adultos como en dos cabritos muertos. La PCR diagnóstica para Ectima realizada sobre el ADN extraído de las costras recolectadas amplificó un producto del tamaño esperado. Todas las muestras de ambos brotes fueron positivas

CONFIRMACIÓN MOLECULAR DE UN BROTE DE ECTIMA CONTAGIOSO EN OVINOS DEL PARTIDO DE BALCARCE, ARGENTINA

Flores, C.¹; Peralta, A.²; Verna, A.¹; Lischinsky, L.¹; Späth, E.¹; Odeón, A.¹; Cantón, G.¹
¹INTA EEA Balcarce. ²Instituto de Biotecnología, CICVyA, INTA Castelar

Introducción

El Ectima contagioso (EC), dermatitis postular infecciosa o "boquera", es una enfermedad zoonótica de distribución mundial, causada por un virus de la familia Poxviridae, género Parapoxvirus, más conocido como Orf virus. Este es un virus epiteliotrópico que provoca lesiones proliferativas en la piel de los labios, fosas nasales, mucosa oral, ubre y ocasionalmente en vulva. Las infecciones afectan a ovinos y caprinos jóvenes, sin embargo se han reportado casos en otros rumiantes domésticos, salvajes y en humanos. Animales lactantes infectados pueden contagiar a sus madres causándoles lesiones en pezones. El periodo de incubación va de 2 a 14 días, siendo un cuadro autolimitante con una duración de 3 – 6 semanas. La morbilidad puede llegar al 100% y la mortalidad es menor al 3%, la que frecuentemente es debida a infecciones bacterianas secundarias o por inanición debido al dolor provocado por las lesiones. Los brotes de EC, generalmente son diagnosticados teniendo en cuenta la anamnesis y revisión clínica de los animales afectados. El objetivo de este trabajo es confirmar la etiología de un episodio de EC en el partido de Balcarce, provincia de Buenos Aires, Argentina, mediante métodos de biología molecular, patología que hasta el momento, si bien había sido sospechada clínica y patológicamente, su etiología no había podido ser confirmada por técnicas de laboratorio apropiadas.

Materiales y Métodos

En el mes de enero de 2015 se asistió a un establecimiento productivo en el partido de Balcarce, provincia de Buenos Aires, Argentina, ante la presencia de una majada de 395 corderos de 4 a 6 meses de edad de razas Texel, Poldorset, Highlander y Corriedale, afectados clínicamente. Los mismos fueron revisados identificando los animales con lesiones visibles. A uno de los animales afectados de cada raza (n= 4) se les realizó biopsia de piel y el espécimen fue colocado en formol bufferado al 10% para realizar estudios histopatológicos de rutina. Además se extrajeron muestras de costras secas (1 animal de cada raza afectada, n= 4). Posteriormente se realizó una PCR diagnóstica utilizando los cebadores descriptos por Kottaridi *et al* (2006), que amplifica una región interna del gen

ORF045. Como control positivo se usó ADN extraído de una cepa virus Orf aislada en un brote en la provincia de Río Negro, Argentina en el año 2013 (Peralta *et al.*, 2015). De forma complementaria se realizó la PCR para un fragmento interno del gen ORF011 descripta por Inoshima *et al* (2000).

Resultados y Discusión

De los 395 corderos, 100 presentaban lesiones proliferativas visibles en la comisura labial, morro, rodete coronario y orejas (Foto 1), sin observar diferencia alguna en cuanto a susceptibilidad racial a diferencia de lo que ocurre en caprinos donde se han descrito cuadros más severos en los individuos de raza Boer (Smith B, 2015). El resto de los corderos de la majada presentaba alteraciones menos evidentes en el interior de la boca y encías, alguna de las cuales ya presentaban lesiones compatibles con un crecimiento bacteriano secundario o miasis, hallazgos habituales en esta infección. Durante el análisis histopatológico se observó una dermatitis necrotizante mixta, con infiltrado linfocitario y de polimorfonucleares, además del inicio de los procesos de regeneración epitelial, similares a los descriptos por Tórtora (1987). Utilizando PCR sobre las 4 muestras analizadas, todas permitieron amplificar los genes ORF045 y ORF011 (Foto 2), lo que permitió confirmar la etiología de este brote de EC.

Conclusión

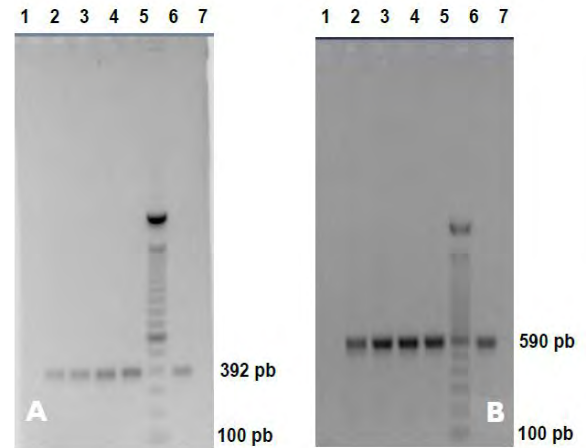
Se pudo confirmar que el cuadro clínico observado en este establecimiento de producción ovina fue producido por el virus del EC. Si bien la clínica y las lesiones son características y ya han sido descriptas otros años en el mismo establecimiento y en otros de la región, este trabajo confirma por primera vez la etiología utilizando técnicas moleculares de diagnóstico.

Se seguirá investigando para poder realizar la caracterización molecular del virus del EC identificado en este episodio y poder compararlo con las cepas aisladas en otras regiones del país, así como las primeras caracterizaciones moleculares de cepas de virus Orf detectadas en humanos en contacto con rebaños afectados.

Foto 1. Lesiones de EC observadas en morro, comisura labial y rodete coronario en ovino afectado de la majada del partido de Balcarce.



Foto 2. (A) Amplificación del gen ORF045 (392 pb) y (B) ORF011 (590 pb) en muestras extraídas de cordero Texel (línea 2), Corriedale (línea 3), Highlander (línea 4) y Poldorset (línea 5). La banda en línea 1 corresponde al control negativo, línea 6 al marcador de peso molecular y línea 7 al control positivo donde se utilizó, ADN extraído de una cepa virus Orf aislada en un brote en la provincia de Río Negro, Argentina en el año 2013 (Peralta et al., 2015).



Bibliografía

- Flores, C.; Peralta, A.; Verna, A.; Lischinsky, L.; Späth, E.; Odeón, A.; Cantón, G. 2015. Confirmación molecular de un brote de Ectima contagioso en ovinos del partido de Balcarce, Argentina. XLIII Jornadas Uruguayas de Buiatría.
- Flores, C.; González, E.; Verna, A.; Peralta, A.; Madariaga, C.; Odeón, A.; Cantón, G. 2017. Virus Orf en humanos, confirmación molecular de un caso clínico en Chile. Revista Chilena de Infectología 34 (6): 607-609.
- Inoshima, Y.; Morooka, A.; Sentsui, H. 2000. Detection and diagnosis of parapoxvirus by the polymerase chain reaction. J Virol Meth 84:201-208.
- Kottaridi, C.; Nomikou, K.; Lelli, R.; Markoulatos, P.; Mangana, O. (2006) Laboratory diagnosis of contagious ecthyma: Comparison of different PCR protocols with virus isolation in cell culture. J Virol Meth 134:119-124.
- Peralta, A.; Robles, C.; Martínez, A.; Alvarez, L.; Valera, A.; Calamante, G.; König, G. 2015. Identification and molecular characterization of Orf virus in Argentina. Virus Genes.
- Smith, B. 2015. Large animal, Internal medicine, 5th Edition. Elsevier. USA, P.748-50.
- Tórtora, J. 1987. Ectima contagioso de ovinos y caprinos. Ciencia Veterinaria 4:257-283.

IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE VIRUS ORF EN ARGENTINA

Peralta, A.^{1,2}; Robles, C.A.³; Martínez, A.³; Alvarez, L.^{1,3}; Valera, A.⁴; Calamante, G.²; König, G.A.^{1,2}
¹CONICET; ²Instituto de Biotecnología, CICVyA INTA; ³Grupo de Sanidad Animal, INTA Bariloche; ⁴FCV, Univ. Nacional de La Plata

Introducción

El virus Orf (ORFV) es el agente etiológico del Ectima Contagioso (EC), una dermatitis pustular de ovinos y caprinos. También se lo considera una zoonosis ocupacional ya que puede afectar a veterinarios y personal de campo que entra en contacto con animales afectados o con fómites contaminados. Se observan brotes de ORFV en todas las regiones geográficas del mundo, incluida Argentina. El diagnóstico de la infección se logra a través de la observación del cuadro clínico, aislamiento viral a partir de las escaras y observación de partículas virales mediante microscopía electrónica. Sin embargo, el único método confiable y aceptado mundialmente es la detección del ADN viral mediante la amplificación de secuencias específicas utilizando la técnica de PCR. El origen e identidad de cepas de ORFV argentinas es desconocido y no se han realizados estudios filogenéticos comparativos. En este trabajo se describe la secuenciación y análisis de cinco marcadores moleculares de ORFV, los genes *orf011*, *orf020*, *orf109*, *orf117* y *orf127*, para dos brotes de EC en Argentina.

Materiales y Métodos

En julio de 2013 ocurrió un brote exantemático en rodeo ovino de la localidad de Pilcaniyeu, Río Negro. Nueve ovejas Merino presentaron lesiones similares a verrugas o escaras secas, en los labios y zona que rodea la boca. El diagnóstico clínico fue EC. Se colectaron las escaras empleando hojas de bisturí y tijeras. Las muestras fueron conservadas refrigeradas hasta su arribo al laboratorio y procesamiento para la extracción del ADN.



Además, se incorporó a nuestro análisis una segunda muestra de escara procedente de un ovino de la localidad de Chascomús, BsAs, diagnosticado como EC en 1997 (la muestra fue criopreservada hasta la fecha).

A partir del ADN obtenido de costras de las lesiones de animales afectados, se realizaron reacciones de PCR para amplificar una región interna del gen *orf011* y las secuencias completas de los genes *orf020*, *orf109*, *orf117* y *orf127*.

Las secuencias obtenidas fueron comparadas con otras secuencias depositadas en el Gen Bank y se establecieron las relaciones filogenéticas computando las distancias genéticas entre los distintos virus (se utilizó el modelo evolutivo Kimura-2p, con el método de Neihgbor-Joinig y un bootstrap de 1000, programa MEGA6).

Resultados

Primero, se confirmó el diagnóstico de EC mediante la realización de una PCR diagnóstica para ORFV basada en el gen *orf045* (3). Todas las muestras resultaron positivas. Entonces, procedimos al estudio de los cinco marcadores moleculares.

El análisis de las secuencias de las nueve muestras de Pilcaniyeu, mostró una identidad nucleotídica del 100% en todos los marcadores analizados. Por este motivo, las nueve muestras fueron tratadas como una única muestra denominada sPi13.

Los árboles filogenéticos mostraron que para el marcador *orf011*, las cepas argentinas sPi13 y sCh97 forman un grupo junto con cepas brasileras y norteamericanas (Figura 1). Esta asociación la volvimos a observar en el árbol filogenético del marcador *orf020*, aunque en este caso, el grupo deja de estar formado sólo por cepas americanas e incorpora una cepa de Nueva Zelanda (NZ2).

En el caso de los marcadores *orf109*, *orf117* y *orf127* (Figura 2) se dispone de pocas secuencias depositadas en el Gen Bank, por lo que no fue posible comparar las secuencias sPi13 y sCh97 con cepas de ORFV americanas, pero se observó que estas dos muestras formaban parte de un grupo filogenético con alto soporte de bootstrap.

Figura 1. Árbol filogenético obtenido con el marcador molecular *orf011*.

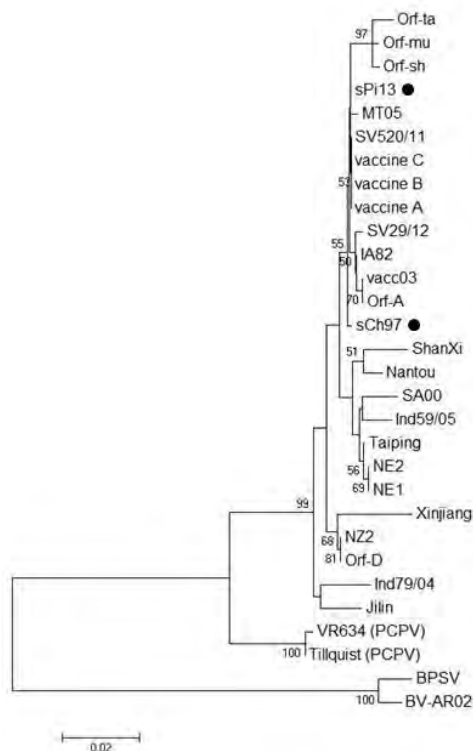
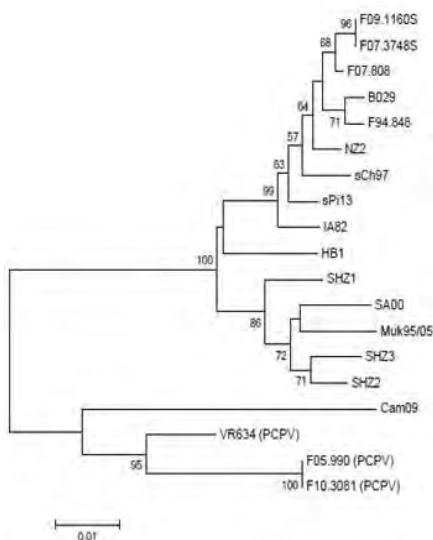


Figura 2. Árbol filogenético obtenido con el marcador molecular *orf117*.



Discusión

En este trabajo, se confirmó el diagnóstico clínico de EC en las muestras de Pilcaniyeu y de Chascomús, mediante la realización de una PCR que amplifica el gen *orf045* de ORFV.

Las nueve muestras de Pilcaniyeu mostraron 100% de identidad en los cinco marcadores moleculares analizados. Esto indica que el brote fue causado por una única cepa y que no se observan variaciones entre animales. Este hecho no es de extrañar en un virus con genoma de ADN, motivo por el cual, las nueve muestras fueron tratadas como una sola.

Para el análisis filogenético del virus Orf se utiliza mayormente el gen *orf011* por ser el primero que se conoció su secuencia y se dispone de un mayor número de secuencias depositadas en el Gen Bank. Basándonos en este gen, los aislamientos argentinos forman un cluster junto con cepas de Brasil y Estados Unidos. Sin embargo, los niveles de confianza de los nodos de este árbol son bajos e intermedios. Un resultado similar fue observado por otros investigadores. Probablemente esto se deba al alto nivel de identidad nucleotídica entre todas las muestras, lo cual resulta en una baja señal filogenética.

La formación de un grupo formado por cepas americanas también se observó en el árbol filogenético obtenido con el marcador *orf020*, sin embargo en este caso se observa la introducción de una cepa neozelandesa.

La incorporación al análisis de los genes *orf020*, *orf109*, *orf117* y *orf127*, permitió obtener una mejor resolución en los árboles filogenéticos con un alto soporte de bootstrap. Este análisis mostró que estas dos cepas argentinas forman un *cluster* en todos los marcadores analizados, aunque para confirmar la conformación de este *cluster* es necesario agregar más cepas argentinas al estudio.

Conclusiones

Este trabajo presenta la primera caracterización molecular de dos brotes de Ectima Contagioso en Argentina.

Los dos aislamientos argentinos se encuentran formando un grupo filogenético en los cinco marcadores analizados, sin embargo, el nivel de soporte de los nodos, la relación interna e incluso algunos miembros del grupo, cambian según la región genómica que se analice.

Se requiere profundizar el estudio con el análisis de más cepas argentinas, para determinar no sólo el grado de variación entre las distintas cepas que circulan en el país, sino también la utilidad de los marcadores seleccionados para el análisis filogenético.

Bibliografía

- Damon I. En "Fields Virology". 2007. Chapter Poxviridae and their replication, pp 2079-2081.
- Robles C. En "Diseases of Sheep", 2008. Chapter 71, pp 524-537.
- Inoshima Y, Morooka A, Sentsui H. 2000. Journal of Virological Methods 84. 201-208.
- Schmidt C., Cargnelutti J.F., Brum M.C.S., Traesel C.K., Weiblen R., Flores E.F. 2013. Vet. Microbiol. 162: 245-253.
- Billinis C., Mavrogianni V.S., Spyrou V., Fthenakis G.C. 2012. Phylogenetic analysis of strains of Orf virus isolated from two outbreaks of the disease in sheep in Greece. Virology Journal 9, 24.

ANÁLISIS FILOGENÉTICO DEL VIRUS ORF EN CINCO BROTES DE ECTIMA CONTAGIOSO EN CABRAS DE ARGENTINA

Peralta, A.¹; Robles, C.A.²; Micheloud, J.F.³; Rossanigo, C.E.⁴; Martínez, A.²; Carosio A.⁴; König, G.A.¹
¹CONICET, Instituto de Biotecnología, CICVyA, INTA, ²Grupo de Salud INTA Bariloche; ³Grupo de Sanidad Animal, IIACS INTA Salta, ⁴Grupo de Sanidad Animal, INTA San Luis

Introducción

El virus Orf (ORFV) es el agente etiológico del Ectima Contagioso (EC), una dermatitis pustular de pequeños rumiantes con distribución mundial. Hasta la fecha, sólo se han caracterizado a nivel molecular dos cepas de ORFV en Argentina. En este trabajo se describe la caracterización molecular y análisis filogenético de cinco aislamientos de ORFV que causaron brotes de EC en hatos caprinos de tres regiones geográficas de Argentina, durante el período 2014-2015.

Materiales y Métodos

En este trabajo se analizaron brotes de EC en tres zonas geográficas distintas: Patagonia, NOA y Centro. Las muestras analizadas corresponden a gNeu14 (Pichi-Neuquén, Neuquén), gCom14 (Comallo, Río Negro,); gLag14 (La Aguadita, Salta), gEma15 (El Manantial, Salta) y gCnc15 (Concarán, San Luis). Las muestras de costras fueron conservadas refrigeradas hasta su arribo al laboratorio y procesamiento para la extracción del ADN.

Para la observación de las partículas virales en el microscopio electrónico, se procesaron 500mg de costra por ultracentrifugación a través de colchón de sacarosa.

A partir del ADN obtenido de costras de las lesiones de animales afectados, se realizaron reacciones de PCR para amplificar una región interna del gen *orf011* y las secuencias completas de los genes *orf020*, *orf109*, y *orf127*.

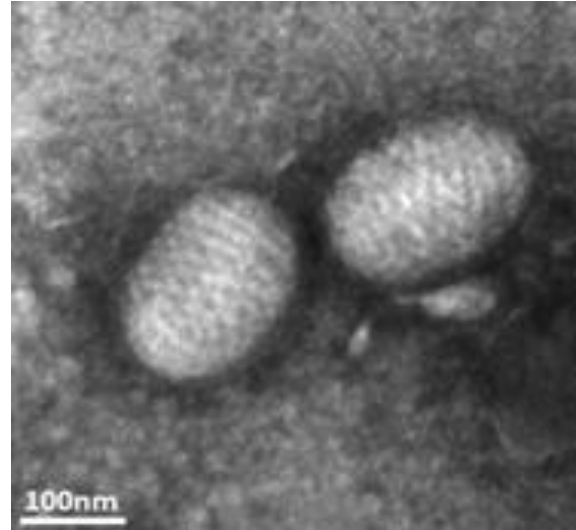
Las secuencias obtenidas fueron comparadas con otras secuencias depositadas en el Gen Bank y se establecieron las relaciones filogenéticas computando las distancias genéticas entre los distintos virus (se utilizó el modelo evolutivo Kimura-2p, con el método de Neighbor-Joining y bootstrap de 1000, programa MEGA6).

Resultados

La fotografía de microscopía electrónica del material concentrado de las costras mostró partículas con la morfología típica de los Parapoxvirus (Figura 1).

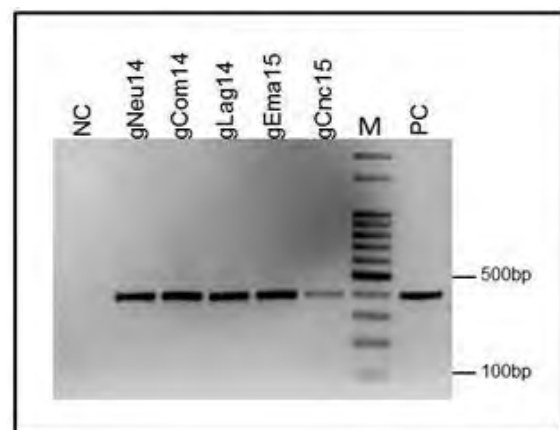
Figura 1. Microscopía electrónica.

A continuación, se confirmó el diagnóstico de



EC mediante la realización de una PCR diagnóstica para ORFV basada en el gen *orf045* (3). Todas las muestras resultaron positivas (Figura 2).

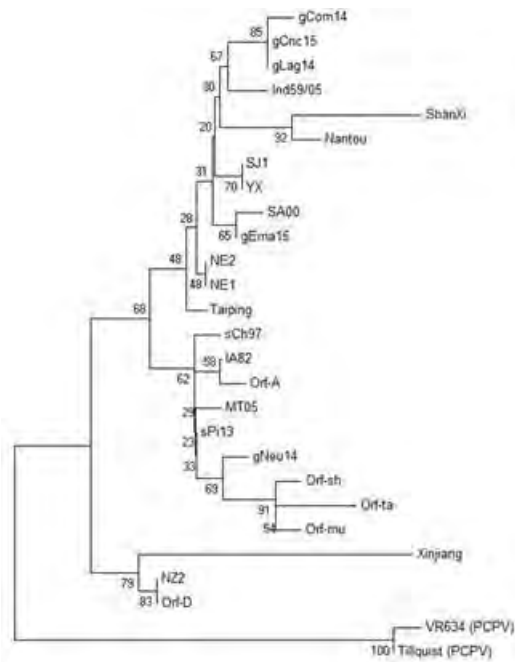
Figura 2. PCR diagnóstica para ORFV.



Procedimos entonces, al estudio de los cuatro marcadores moleculares.

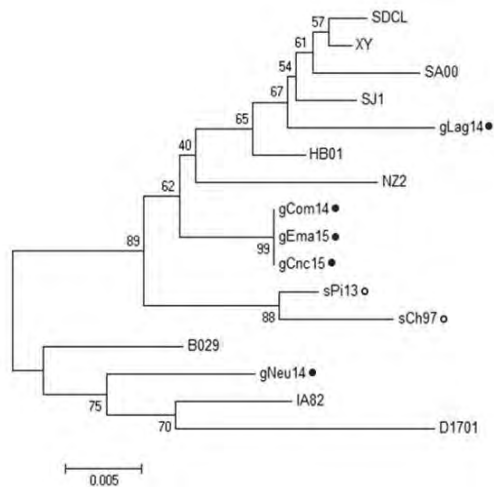
Los árboles filogenéticos mostraron que para el marcador *orf011*, la cepa gNeu14 se agrupa junto con las argentinas sPi13 y sCh97, cepas brasileras y norteamericanas (Figura 3). Esta asociación la volvimos a observar en el árbol filogenético del marcador *orf020*, aunque en este caso, el grupo deja de estar formado sólo por cepas americanas e incorpora una cepa de Nueva Zelanda.

Figura 3. Árbol filogenético del gen *orf011*.



En el caso de los marcadores *orf109* y *orf127*, se dispone de pocas secuencias depositadas en el Gen Bank, por lo que no fue posible comparar las secuencias argentinas con cepas de ORFV americanas, pero sí pudimos establecer una relación entre algunas de las cepas argentinas con alto soporte de *bootstrap*. En la Figura 4 se muestra el árbol filogenético obtenido para el marcador *orf127*.

Figura 4. Árbol filogenético para el gen *orf127*. Con círculos negros se indican las cepas de ORFV analizadas en este trabajo. Con círculos blancos se señalan las dos cepas argentinas de ORFV conocidas en 2015 (2).



Discusión

Para el análisis filogenético del virus Orf se utiliza mayormente el gen *orf011* por ser el

primero que se conoció su secuencia y se dispone de un mayor número de secuencias depositadas en el Gen Bank. Sin embargo, los niveles de confianza de los nodos de este árbol son bajos o intermedios. Probablemente esto se deba al alto nivel de identidad nucleotídica entre todas las muestras, lo cual resulta en una baja señal filogenética. La incorporación al análisis de los genes *orf020*, *orf109*, y *orf127*, permitió obtener mejores niveles de confianza en los nodos de los árboles filogenéticos.

Del análisis conjunto de los cuatro marcadores, observamos que la cepa gCom14 que causó un brote en la localidad de Comallo, Río Negro, resultó distinta a la cepa que causó un brote de EC en una localidad cercana el año anterior (cepa sPi13, de Pilcaniyeu, Río Negro).

Las muestras gCom14 y gCnc15 siempre agruparon juntas y con alto valor de confianza en todos los marcadores analizados. Estas dos muestras mostraron un 100% de identidad nucleotídica con la muestra gEma15 en los marcadores *orf109* y *orf127*. Esto podría indicar un origen común de estas cepas de ORFV.

Los árboles filogenéticos obtenidos con los marcadores *orf011* y *orf020* mostraron que la muestra gNeu14 forma un *cluster* junto con cepas de Brasil y Estados Unidos y las argentinas sPi13 y sCh97. Pero al analizar los otros marcadores moleculares resultó estar filogenéticamente alejada del resto de las cepas argentinas.

El análisis de los datos epidemiológicos tomados en los distintos brotes de EC, mostró que en tres de los cinco brotes, la enfermedad apareció luego de la incorporación en el rodeo de animales aparentemente sanos.

Conclusiones

Este trabajo presenta la primera caracterización molecular de ORFV obtenido de caprinos afectados en cinco brotes de Ectima Contagioso en Argentina.

El análisis de los cuatro marcadores moleculares para las muestras de los cinco brotes de EC estudiados en este trabajo, permitió observar que en Argentina circulan varias cepas distintas de ORFV.

Finalmente, los datos epidemiológicos tomados señalan que es importante conocer el estatus sanitario de los animales que se introducen en los establecimientos a fin de evitar la dispersión de cepas entre localidades o provincias.

Bibliografía

- Damon I. 2007. En "Fields Virology", Chapter Poxviridae and their replication, pp 2079-2081.
- Peralta A., Robles C., Martínez A., Álvarez L., Valera A., Calamante G., König G. 2015. Virus Genes 50, 381-388.
- Inoshima Y, Morooka A, Sentsui H. 2000. Journal of Virological Methods 84. 201-208.

EVIDENCIA PRELIMINAR DEL VIRUS DE LA ARTRITIS-ENCEFALITIS CAPRINA (CAEV) Y EL VIRUS MAEDI-VISNA (MVV) EN CABRAS DE SAN LUIS

Alvarez I.¹⁻²; Raia A.¹, Porta N.¹⁻²; Rossanigo C. E.³; Delgado G.⁴, Trono K.¹⁻², Carosio A.³

¹Instituto de Virología, INTA Castelar, ²CONICET, ³Lab. Sanidad Animal, INTA San Luis, ⁴Lab. del Campo. Gob. de San Luis.

Introducción

Los Virus de la artritis-encefalitis caprina (Caprine Arthritis-Encephalitis Virus-CAEV) y Maedi-visna (MVV) son miembros de la familia de los Retrovirus, e infectan ovejas y cabras en forma indistinta. La mayoría de los animales infectados son asintomáticos, solo un pequeño porcentaje desarrollan un síndrome clínico caracterizado por una enfermedad inflamatoria multisistémica que afecta pulmones, sistema nervioso central, articulaciones y glándula mamaria. CAEV y MVV pueden ser aislados de tejidos afectados o de fluidos mediante co-cultivo con células susceptibles por detección de efecto citopático (ECP) característico y posterior confirmación por inmunomarcaje y/o biología molecular. El objetivo de este trabajo fue realizar el aislamiento del virus CAEV/MVV mediante cultivo celular a partir de muestras de cabras de la provincia de San Luis con sintomatología clínica compatible con Artritis-encefalitis caprina.

Materiales y Métodos

Se realizaron ensayos de inoculación de cultivos celulares con el objeto de detectar CAEV/MVV a partir de diferentes muestras de dos cabras (nro.29 y nro.88) con sintomatología compatible de Artritis-encefalitis caprina y serología positiva, pertenecientes a un rodeo de la provincia de San Luis. Para esto, monocapas subconfluentes de células de la línea GSM (membrana sinovial de cabra) fueron inoculadas con líquido sinovial, linfocitos de sangre periférica y homogenatos de membrana sinovial, glándula mamaria, linfonódulo mamario y pulmón de ambas cabras. Se observó diariamente la presencia de efecto citopático (ECP) característico durante 10 días. Los cultivos fueron pasados en forma ciega. Aquellos cultivos donde se observó la presencia de efecto citopático fueron sometidos a un ensayo de PCR puesto a punto en nuestro laboratorio (según Olech y col. 2012), con el objeto de detectar la presencia de fragmentos genéticos específicos virales. Todas las muestras originales inoculadas en células GSM fueron evaluadas antes de ser inoculadas por el mismo ensayo de PCR para detectar la presencia de material genético de CAEV/MVV.

Resultados

Cuando se realizó el co-cultivo de células GSM con los diferentes tejidos de ambas cabras, se observó un ECP compatible con infección por CAEV/MVV en el segundo pasaje del líquido sinovial y en menor medida de las muestras de PBMC. Esta observación fue concordante con la detección de RNA específico de CAEV/MVV en los lisados de células de los co-cultivos de las muestras antes mencionadas (Tabla 1). Además, se detectó RNA viral en los homogenatos crudos de membrana sinovial y glándula mamaria de la cabra 29. Se detectó DNA proviral solo en el homogenato de membrana sinovial de la cabra 29. (Tabla 2) Al momento de la escritura de este resumen, se están realizando nuevos pasajes ciegos de cada uno de los co-cultivos de células GSM con los diferentes tejidos, así como amplificando los pocillos donde se detectó ECP. Los cultivos deben ser pasados varias veces antes de ser declarados negativos.

Conclusiones

Los resultados preliminares obtenidos hasta el momento, aportan información preliminar sobre la detección de CAEV/Maedi Visna en Argentina. Muchos más ensayos son necesarios para confirmar el hallazgo, y obtener evidencia de identificación y caracterización viral específica. Para esto, las muestras positivas en el ensayo de PCR están siendo secuenciadas para establecer el genotipo de la cepa en aislamiento, y de esta forma comenzar a juntar evidencias de cepas que circulan en nuestro país. Este trabajo, es un primer paso para comenzar a conocer la situación de la enfermedad producida por CAEV/MVV en Argentina y para poner a punto métodos diagnósticos que permitan establecer medidas rápidas de control de la infección para evitar su diseminación.

Nota: Por ser la Artritis-encefalitis caprina una enfermedad de denuncia obligatoria, la misma fue comunicada al SENASA local (San Luis). Las muestras utilizadas fueron obtenidas en la necropsia realizada por SENASA en conjunto con EEA de San Luis.

Tabla 1. Resultados de la inoculación obtenidas de ambas cabras sobre células GSM.

cabra 29	P1			P2			P3		
	ECP	RNA	DNA	ECP	RNA	DNA	ECP	RNA	DNA
PBMC	-	+	-	leve ECP	+	NR	-	-	NR
Líquido Sinovial	-	+	+	ECP	+	NR	ECP	+	NR
Homogenato Membrana Sinovial	ECP	-	NR	NR			NR		
Homogenato Glándula Mamaria	leve ECP	-	NR						
Homogenato Linfonódulo mamario	ECP	-	NR						
Homogenato Pulmón	-	-	NR						
cabra 88	P1			P2			P3		
	ECP	RNA	DNA	ECP	RNA	DNA	ECP	RNA	DNA
PBMC	leve ECP	+	-	leve ECP	+	NR	leve ECP	-	NR
Líquido Sinovial	-	+	-	leve ECP	+	NR	leve ECP	+	NR
Homogenato Membrana Sinovial	ECP	-	NR	NR			NR		
Homogenato Glándula Mamaria	ECP	-	NR						
Homogenato Linfonódulo mamario	-	-	NR						
Homogenato Pulmón	-	-	NR						

(P1) pasaje 1. (P2) Pasaje 2. (P3) Pasaje 3. ECP: efecto citopático. PBMC: polimorfonucleares de sangre periférica. NR: no realizado

Tabla 2. Detección de DNA/RNA en las distintas muestras analizadas. Se realizó la extracción de RNA y DNA utilizando kit comerciales y luego se realizó PCR según Olech y col. 2012.

Muestras	cabra 29		cabra 88	
	RMA	DNA	RMA	DNA
Sangre entera	NR	+	NR	+
Homogenato Membrana Sinovial (MS)	+	+	-	-
Homogenato Glándula Mamaria (GM)	+	-	-	-
Homogenato Linfonódulo mamario (LM)	-	-	-	-
Homogenato Pulmón (P)	-	-	-	-
Cultivo directo de PBMC	+	+	-	-
Cultivo directo de líquido sinovial	+	+	-	-

Bibliografía

-OIE, Organización Mundial de Sanidad Animal. Artritis/encefalitis caprina y Maedi-Visna. Manual of Diagnostic Test and Vaccines for Terrestrial

Animals (mammals, birds and bees). 2008b. Capítulo 2.7.3/4.

-Leroux, C.; Cruz, J.C.M.; Mornex, J.F. SRLVs: A genetic continuum of lentiviral species in sheep and goats with cumulative evidence of cross species transmission. Curr. HIV Res. 2010, 8, 94–100.

VIRUS DE LA ARTRITIS-ENCEFALITIS CAPRINA EN LAS PROVINCIAS DE SALTA Y JUJUY

Dodero, A.M.¹; Micheloud, J.F.¹; Alfaro, J.R.²; Alfaro, E.J.²; Pinto, G.B.³; Suarez, V.H.¹
¹Área de Sanidad Animal, Instituto de Investigación Animal del Chaco Semiárido, INTA Salta; ²Área de Producción Animal, INTA Salta; ³Instituto de Virología INTA Castelar

Introducción

La artritis y encefalitis caprina es una enfermedad producida por un virus perteneciente al grupo génico lentivirus de rumiantes menores (SRLV). Afecta a ovinos y caprinos transmitiéndose naturalmente entre ambas especies y puede producir cuatro formas clínicas clásicas: pulmonar, nerviosa, mamaria y articular.

La principal forma de transmisión de la enfermedad es la horizontal, existiendo la vertical, iatrogénica y por fómites.

El virus se detectó en la Argentina serológicamente por primera vez en ovinos en 2001 en la provincia de Río Negro y a partir de entonces se lo ha encontrado con prevalencias crecientes en casi todo el país, y en San Luis a finales de 2015, Provincia de Buenos Aires, y el referido en el presente trabajo Salta durante el año 2016.

A fin de caracterizar la presencia general de enfermedades en las majadas caprinas del noroeste, se llevó a cabo una encuesta, con toma de muestras biológicas para el diagnóstico de diferentes enfermedades en la que fue incluida CAEV. Al encontrarse resultados positivos se propuso mostrar la situación epidemiológica de la enfermedad en las provincias de Salta y Jujuy a través de las seroprevalencias obtenidas entre los años 2011-2016.

Materiales y Métodos

Entre 2011 a 2016 se realizó una encuesta *ad hoc* a pequeños productores familiares de caprinos, de 78 establecimientos de las ecorregiones de Quebradas Áridas (QA), Chaco Salteño (CS) y Valles Templados (VT) de las provincias de Salta y Jujuy. Se tomaron muestras de suero de entre 20 y 25 hembras adultas por establecimiento.

Se procesaron los sueros para el diagnóstico de diferentes patologías y se realizó la prueba tamiz de ELISA IDEXX

CAEV/MVV Total Ab. IDEXX MVV/CAEV p28 Ab Verification fue utilizada como método confirmatorio.

Se detectó un hato positivo, ubicado en VT, con la presencia de signos clínicos. Se realizó una revisión clínica exhaustiva total con énfasis en aparato locomotor acompañado de un seguimiento clínico durante todo el año con el

sacrificio y toma de muestras de algunos de los casos.

Se siguió el protocolo de necropsia descrito por Robles (1991), y la metodología convencional de fijación en formol e inclusión en parafina del procesamiento por las técnicas histológicas de rutina.

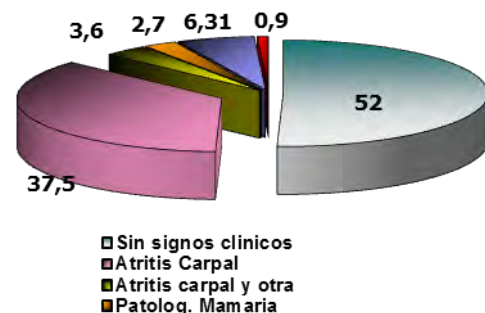
Resultados

Se detectó un establecimiento positivo en cada ecorregión, un 3,8% de prevalencia para Salta-Jujuy. No se hallaron casos positivos en Jujuy mientras que la prevalencia de Salta fue de 6,25%. Los establecimientos positivos por ecorregión tuvieron prevalencias de 2,5% en QA, 2,7% en CS y fue positivo el único establecimiento evaluado de VT, mientras que los resultados de las majadas fueron de 4,8% QA, 10% CS y 55% VT.

En el caso de VT, se trató de un tambo con la posibilidad de realizar un seguimiento del brote y donde el 48% de los animales tenía algún tipo de signología clínica, el 46,8% fueron casos de patología articular con los siguientes porcentajes: afecciones carpales 37,84%. Carpos e interfalángicas, 0,9%, lesiones tarsales 3,6% y coxofemoral solamente 0,9% que además tenía afectada la articulación atlanto-odontoidea, ligamento y bolsas nucales. También se presentaron casos de mastitis y secado temprano cercano al parto 9% y se observó un caso de encefalitis en un cabrito de 50 días.

Estos resultados se resumen en la Figura 1.

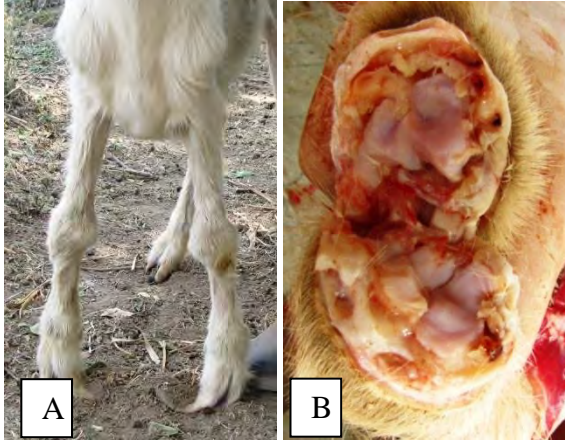
Figura 1. Porcentajes de sinología clínica en el hato completo.



En los casos que se logró realizar una necropsia, todos mostraron artritis que en sus inicios era de tipo serosa para después convertirse en proliferativa. En los más severos

además se apreciaba necrosis caseosa. En animales de más larga evolución se observó erosión y adelgazamiento del cartílago articular que en algunos casos dejaba expuesto el hueso sub-condral.

A-Artritis bilateral severa de los carpos en una cabrilla. **B**- Lesiones proliferativas de la capsula articular



En pulmón las lesiones fueron leves y sólo en un animal se observaron lesiones macroscópicas caracterizadas por consolidación de los márgenes pulmonares. Microscópicamente las lesiones articulares se caracterizaron por la infiltración linfoidea, acompañada de proliferación papilar de capsula sinovial y fibroplasia del tejido conectivo sub-capsular. En algunos casos muy severos se apreció necrosis coagulativa del tejido sinovial que quedaba alojada en el interior de la articulación.

Discusión

No se presentaron casos en Jujuy. En QA de Salta hubo una explotación familiar que con animales lecheros cruza Saanen con una prevalencia baja. En el CS la prevalencia fue mayor con predominio de animales criollos y cruza Anglo Nubian, mientras que el caso de VT de alta prevalencia, se dio en un tambo comercial, con manejo semi-intensivo de caprinos Saanen. Esto podría indicar una mayor susceptibilidad de las razas lecheras y/o una mayor facilidad de difusión de la enfermedad debidas al manejo productivo del tambo. Otro motivo facilitador puede haber sido las importaciones en pie, de animales lecheros que acontecieron en forma legal e ilegal durante los años 1995-2000, sin ningún tipo de control sobre la enfermedad.

El seguimiento del caso en VT, muestran que la enfermedad es principalmente articular, donde

la articulación del carpo es la más afectada y a diferencia con reportes, las lesiones presentan un alto grado de necrosis, dato particular que podría estar indicando diferencias en su grado de patogenicidad de la o las cepas circulantes. Cabe destacar, que la patología mamaria ocurrió principalmente en cabrillas de primer parto.

Los resultados epidemiológicos contrastan con los presentados por Trezeguet (2013), indicando que sería recomendable un cribado más exhaustivo para obtener resultados actualizados y representativos de la zona.

En el país se ha descrito la presencia de casos clínicos con serología positiva desde 2001. Esta información evidencia que la enfermedad está presente en Salta como también en el resto del país, que si bien los casos clínicos son típicos, la patogenicidad hace pensar en nuevas cepas que deben ser investigadas. El brote cito en VT ha derivado una línea de investigación con resultados promisorios que ratifican la importancia de un mayor conocimiento de las características de este agente patógeno y que sería necesario el desarrollo de capacidades locales para el diagnóstico de la enfermedad y/o validación de técnicas diagnósticas precoces, sensibles, específicas como también asequibles para el mercado local, dado que es fundamental la detección de los animales positivos dentro del hato para poder llevar adelante cualquier tipo de medida de saneamiento que no fuera la depopulación, aun así, es necesario el diagnóstico para la adquisición de nuevos animales libres de la enfermedad.

Bibliografía

- Minguijón E, Reina R, Pérez M, Polledo L, Villoria M, Ramírez H, Leginagoikoa I, Badiola JJ, García-Marín JF, De Andrés D, Luján L, Amorena B, Just RA. 2015. Small ruminant lentivirus infections and diseases. *Vet. Microbiol.* 181(1-2):75-89.
- Rossanigo C, Delgado C, Carosio A, Raia A, Alvares I, Rodríguez M, Paje W, Pinto G. 2016. Reporte de un caso de artritis-encefalitis caprina en la provincia de San Luis. *Boletín nº 3 PNSA*. Ed. INTA.
- Robles CA, Layana JA, Cabrera RF, Raffo F, Cutlip R. 2003. Estudio serológico retrospectivo de Maedi (Neumonía Progresiva) en ovinos y de Artritis-Encefalitis en caprinos de Patagonia, Argentina. *Revista de Medicina Veterinaria.* 84(3): 96-99.

PRESENTACIÓN CLÍNICA DE UN CASO DE ARTRITIS-ENCEFALITIS CAPRINA (CAE) Y TOXOPLASMOSIS EN SAN LUIS (ARGENTINA)

Rossanigo, C.E.¹; Delgado, G.²; Raia, A.³; Delgado, F.⁴; Carosio, A.¹; Alvarez, I.³; Rey, J.⁵; Rodriguez, M.⁵ y Page, W.¹

¹Grupo de Sanidad Animal INTA San Luis; ²Laboratorio del Campo, San Luis; ³Laboratorio de Virus Adventicios INTA Castelar; ⁴Instituto de Patobiología INTA Castelar; ⁵Ministerio de Medio Ambiente, Campo y Producción, San Luis

Introducción

Los lentivirus de pequeños ruminantes (small ruminant lentiviruses – SRLVs) son miembros de la familia de los Retrovirus y comprenden al Virus Maedi-visna (VMV) y al Virus de la artritis-encefalitis caprina (Caprine Arthritis-Encephalitis - Virus- CAEV) que infectan a ovejas y cabras. La mayoría de los animales infectados por estos virus son asintomáticos, pero un porcentaje desarrollan un síndrome clínico caracterizado por una enfermedad inflamatoria multisistémica que afecta pulmones, sistema nervioso central, articulaciones y glándula mamaria. Los animales asintomáticos y los que presentan enfermedad son fuente de virus y pueden transmitir la enfermedad a animales sanos. En la CAEV las principales presentaciones son las de una encefalomielitis progresiva que afecta a cabritos de 2 a 6 meses y el de la artritis crónica que se observa principalmente en animales mayores de un año, aunque se han descrito otros tres síndromes que cursan con mastitis acompañada de hipogalactia o agalactia, con neumonía intersticial progresiva crónica y con pérdida de peso. Esta enfermedad se transmite en forma vertical a través de la leche o el calostro de cabras infectadas, u horizontal, a través de secreciones vaginales, sangre, saliva o vías respiratorias. En nuestro país la enfermedad es de denuncia obligatoria y se encuentran en la lista de enfermedades del Código Sanitario para los Animales Terrestres de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE). En Argentina se ha reconocido la existencia de animales serológicamente positivos en majadas de varias provincias, aunque hasta el presente no se ha podido aislar el virus. Esta comunicación tiene el propósito de aportar las observaciones realizadas en un caso clínico con artritis crónica compatible con CAEV en cabras de un establecimiento caprino del centro de la pcia de San Luis.

Materiales y Métodos

El caso se presentó en agosto del 2015 en una majada de un pequeño productor de la localidad de Donovan (San Luis) compuesta por 28 cabras y un macho Saanen que habían sido comprados el año anterior. El productor

realizó la consulta por que sus cabras presentaban abortos en la parición de otoño-invierno, problemas de artritis en la articulación carpo-metacarpiana que dificultaban el desplazamiento y el antecedente que a su mujer le habían detectado brucelosis en el hospital provincial de San Luis atribuida al consumo de leche de las cabras enfermas. En visitas previas se extrajo sangre de la vena yugular en dos sangrados más de 15 de diferencia, para el chequeo de enfermedades abortivas: brucelosis, usando la técnica de BPA como prueba tamiz y toxoplasmosis por inmunofluorescencia indirecta (IFI). Posteriormente en una visita clínica se registraron los antecedentes del caso, se revisaron todos los animales y frente a la sospecha de infección por virus de la Artritis-Encefalitis, se extrajo sangre entera con anticoagulante a 9 cabras que fueron procesadas por ELISA comercial para la detección de anticuerpos contra CAEV/MVV utilizando reactivos de un Kit de Idexx Laboratories. Se sacrificaron dos de los animales más afectados y se tomaron muestras refrigeradas y en formol de diferentes órganos (encéfalo, pulmón, glándulas mamarias, articulaciones con artritis) y fluidos corporales (leche y sangre) con la intención del aislamiento viral futuro y de estudios histopatológicos. Específicamente en encéfalo se realizaron estudios en secciones de 3 µm de espesor de corteza frontal, parietal y occipital, tálamo, núcleos basales, mesencéfalo, puente, óbex y cerebelo.

Resultados

En la anamnesis realizada se pudo determinar que los caprinos Saanen comprados provenían de un tambo-quesería de la región que al cerrar su actividad productiva puso en venta las hembras y los machos a pequeños productores de la zona, terminando muchos de ellos con la misma problemática de las artritis crónicas. Según el relato del productor los abortos eran de fetos grandes con un moco marrón entre la placenta o a veces se producía el nacimiento de cabritos débiles que morían en las primeras 48 horas de vida. La anamnesis reveló también que el diagnóstico de brucelosis de la mujer databa de 10 años atrás con un agravamiento actual de la sintomatología independiente a la problemática de la majada. En el examen

clínico se detectaron 3 cabras (11%) con ubres indurativas e hipogalactia y 8 animales (29%) con sintomatología clínica de artritis del carpo con aumento de la temperatura local y dolor articular (Fotos).



Todos los animales sangrados fueron negativos al BPA y se detectó una importante seroconversión en los títulos serológicos superiores a 1/400 por IFI en 4 cabras y el macho. La detección de anticuerpos contra CAEV por ELISA arrojó el 100 % de las muestras positivas. El diagnóstico morfológico del estudio histopatológico de los dos encéfalos reveló edema cerebral y una meningoencefalitis no supurativa muy leve en uno de ellos.

Discusión y Conclusión

La detección de anticuerpos frente a CAEV confirma el diagnóstico clínico y presuntivo de la artritis crónica cursada con mastitis fibrosa y hipogalactia. Este diagnóstico clínico-serológico será reforzado con los estudios de detección y aislamiento viral que se están llevando a cabo en el Laboratorio de Virus Adventicios del Instituto de Virología del CICVyA INTA Castelar. Por tratarse de una enfermedad de denuncia obligatoria la misma fue comunicada al SENASA local. El resultado de los títulos a toxoplasmosis iguales o superiores a 1/400 con importantes seroconversiones hacen considerar que el *Toxoplasma gondii* pudo ser el agente etiológico de los abortos ocurridos en el otoño-invierno. Los cambios observados en los estudios histopatológicos son compatibles con un trastorno hemodinámico sistémico, posiblemente asociado con agonía o con el método de eutanasia empleado.

Bibliografía

- Bedotti, D.O.; Fort, M. C.; Giménez, H.; Langhoff, A.; Garré, J. y Hertsommer, O. 2007. Descripción de un caso de artritis-encefalitis caprina en la provincia de La pampa, Argentina. Vº Congreso de Especialistas en Pequeños Rumiantes y Camélidos Sudamericanos, Mendoza, Argentina.
- Robles, C. A.; Layana, J. A.; Cabrera, R. F.; Raffo, F. y Cutlip, R. 2003. Estudio sexológico retrospectivo de Maedi (Neumonía Progresiva) en Ovinos y Artritis Encefalitis en Caprinos de Patagonia. Argentina. Revista de Medicina Veterinaria. Vol.84 (3):96-99.
- Rossanigo, C. E.; Venturini, L.; Venturini, M. C.; Bacigalupe, D. y Unzaga, J. M. 2002. Toxoplasmosis caprina en majadas de San Luis. Memorias de resúmenes XIVa Reunión (AAVLD). Villa Gral Belgrano (Córdoba). Resumen Parasitología PAR-08.
- Trezeguet, M. A.; Debenedetti, R. T.; Suarez, M. F.; Barral, L. E. y Ramos, M. 2010. Detección de la artritis- encefalitis caprina, en majadas generales, en Argentina. Veterinaria Argentina, 27(270). Disponible en: <http://www.veterinariargentina.com/revista/2010/10/13888/>
- Trezeguet, M. A.; Suárez, M. F.; Barral, L. E.; Periolo, F.; Celia Esther Maidana, C. E.; Parías, P. C.; Carlos Eduardo Rodríguez, C. E.; Debenedetti, R. T.; Marcos, A. y Cosentino, B. 2013. Situación epidemiológica de maedi-visna y artritis encefalitis caprina en la Argentina. Sns (SENASA), vol. 1, N.º 1: 1-11.

LESIONES MACROSCÓPICAS, MICROSCÓPICAS Y ALTERACIONES HEMATOLÓGICAS EN UN CASO DE ARTRITIS-ENCEFALITIS CAPRINA EN LA PROVINCIA DE LA PAMPA

Bedotti, D.O.¹; Herpsomer, O.²
¹INTA Anguil; ²SENASA

Introducción

La Artritis - Encefalitis Caprina es una enfermedad crónica en adultos y de características más agudas en cabritos jóvenes producida por un lentivirus. En cabritos de hasta aproximadamente seis meses de edad, la principal sintomatología es una paresia que comienza en miembros posteriores y que progresa hacia una parálisis ascendente que termina comprometiendo también los miembros anteriores. Esta sintomatología es producida por lesiones en el sistema nervioso central, en el que el virus provoca una leucoencefalitis desmielinizante no supurativa.

En animales adultos, la principal sintomatología es la aparición de artritis, especialmente en las articulaciones carpales, aunque en muchos casos se afectan otras articulaciones también. Otra sintomatología comúnmente mencionada es la mastitis indurativa con agalaxia o hipogalaxia en animales lactantes. Además se describen otros síndromes más inespecíficos como la pérdida progresiva de peso y la aparición de neumonías de tipo intersticial. El diagnóstico de la enfermedad se realiza por las técnicas de inmunodifusión en gel y ELISA. Las lesiones macroscópicas y microscópicas, consideradas en su conjunto, si bien no constituyen un elemento de diagnóstico patognomónico, son bastante orientativas de la enfermedad y de utilidad como diagnóstico complementario a las técnicas serológicas mencionada.

Materiales y Métodos

Los animales estudiados pertenecían a una majada de 79 animales, en la cual se había diagnosticado la enfermedad por pruebas de I.ELISA e inmunodifusión en gel, registrando un 24% de animales con títulos serológicos positivos frente al virus de la Artritis encefalitis caprina.

Se realizó la inspección visual y táctil de todos los animales de la majada encontrándose solamente que 4 de ellos (5%) presentaban síntomas clínicos siendo los cuatro positivos a las pruebas serológicas mencionadas. Tres de las cuatro cabras, identificadas con los números 074, 068 y 873 fueron sacrificados con fines diagnósticos. Previamente se les extrajo sangre con antiocoagulante para análisis hematológicos.

Se extrajeron muestras para análisis histológico de sistema nervioso central, pulmón, ganglio linfático, ubre, tejidos periarticulares y membrana sinovial, tendón y tercer párpado. Las piezas se conservaron en formol al 10%, y se procesaron con los procedimientos de rutina para la coloración de Hematoxilina y Eosina.

Resultados

Los animales que se habían detectado con sintomatología, no manifestaban dolor al caminar ni al tacto, dos presentaban aumento del tamaño y leve deformación de las articulaciones carpales, especialmente del miembro izquierdo, con presencia de escasa cantidad de líquido en la bursa carpal. Al tacto no se apreciaba deformación ósea, registrándose un aparente engrosamiento de los tejidos blandos, siendo negativo el signo de Godet para evaluación de un posible edema.

En los otros dos animales se apreciaban las ubres turgentes, sin deformaciones visibles y sin dolor, pero al tacto presentaban una consistencia mucho más dura que la de los tejidos mamarios normales y prácticamente no excretaban leche al intentar las maniobras de ordeño manual. De los tres animales sacrificados, dos presentaban lesiones de ubre y uno lesiones articulares.

Durante la necropsia las articulaciones carpales lesionadas presentaron engrosamiento de tejidos periarticulares y perisinoviales de coloración levemente amarillenta en alguno de ellos. Al abrir las articulaciones se observó líquido sinovial de aspecto ambarino y en cantidad mayor a lo normal.

Las ubres registraban mayor resistencia y firmeza al corte que lo normal, percibiéndose cierta fibrosis.

En los pulmones no se observaron lesiones, a excepción de la presencia de un quiste hidatídico de gran tamaño en la cabra N° 873. En el sistema nervioso central no se observaron lesiones macroscópicas, como tampoco en el resto de los órganos examinados.

Las lesiones histológicas consistieron en presencia de manguitos perivasculares de células mononucleares aislados en SNC (Fig. 1) áreas pequeñas de neumonía intersticial aisladas (Fig. 2) e hiperplasia linfoidea de nódulos peribronquiolares en pulmones (Fig. 3); hiperplasia de las zona paracortical con

pérdida de estructura de los folículos en ganglios linfáticos; en los tejidos periarticulares, tejido conjuntivo de los tendones y de las vainas tendinosas, se observó infiltración linfoidea con formación de nódulos linfoides y la membrana sinovial de la articulación se encontraba engrosada y con proyecciones de vellosidades hacia la superficie articular, con densas infiltraciones inflamatorias e hiperplasia de células sinoviales de recubrimiento, constituyendo una sinovitis proliferativa (Fig. 4). Las ubres presentaban proliferación de nódulos linfoides, fuerte hiperplasia del tejido conjuntivo de sostén e infiltración de acinos glandulares con células inflamatorias mononucleares (Fig. 5). En el tercer párpado se observó también hiperplasia de los nódulos linfoides e infiltración de células mononucleares de la zona glandular (Fig. 6). La composición celular de las infiltraciones inflamatorias estaba representada principalmente por linfocitos, células plasmáticas, macrófagos y algunos neutrófilos y células gigantes.

Fig.1. Infiltración de células mononucleares SNC.

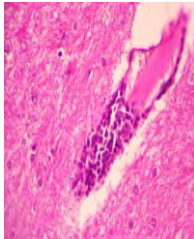


Fig.2. Neumonía intersticial

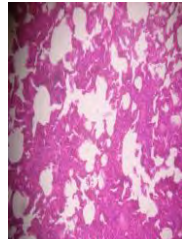


Fig.3. Hiperplasia peribronquial en Pulmón.

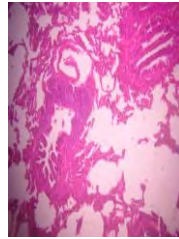


Fig.4. Sinovitis proliferativa

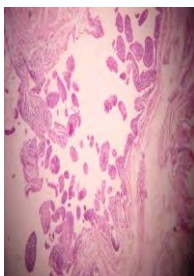


Fig.5. Infiltración inflamatoria e Hiperplasia del tej. conjuntivo de la ubre

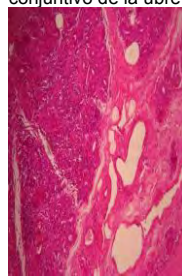
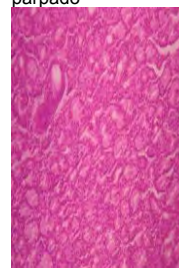


Fig.6. Infiltración inflamatoria de la zona glandular del 3º párpado



En la Tabla 1 pueden observarse los análisis hematológicos que comprendieron el recuento de glóbulos blancos, hematocrito, % de hemoglobina y fórmula leucocitaria absoluta y relativa de los tres animales que fueron sacrificados.

Tabla 1. Análisis hematológicos de los 3 animales sacrificados.

Nº de caravana		074	873	068
Recuento Gl.bl (/mm ³)		8800	9600	5200
Hematocrito (%)		33	27	25
Hemoglobina (gr/dl)		10,70	8,85	8,60
Fórmula Leucocitaria Relativa	Neutrófilos	41	41	50
	Eosinófilos	4	16	5
	Basófilos	0	0	0
	Linfocitos	54	42	45
	Monocitos	1	1	1
Fórmula Leucocitaria Absoluta	Neutrófilos	3608	3936	2600
	Eosinófilos	352	1536	260
	Basófilos	0	0	0
	Linfocitos	4752	4032	3240
	Monocitos	88	96	52

Pudo observarse una leve linfopenia en los animales 873 y 068. En el animal 873 se evidenció además un aumento de los eosinófilos.

Conclusiones

Los hallazgos macroscópicos e histológicos, acompañados por linfopenia en animales positivos a las pruebas serológicas para el diagnóstico de Artritis-Encefalitis caprina concuerdan con los descritos en la bibliografía sobre la enfermedad aunque se describen también cuadros lesionales más severos, con necrosis de cartílago y hueso, y mineralizaciones. Las lesiones más espectaculares corresponden a las encontradas en la ubre. Se destaca que si bien macroscópicamente solamente se observaban lesiones en articulaciones y ubre, se pudieron observar lesiones histológicas en otros órganos como pulmón, sistema nervioso central y tercer párpado, sin manifestaciones clínicas ni nerviosas ni pulmonares. De las lesiones microscópicas del tercer párpado no se han encontrado referencias en la bibliografía, por lo que podría ser otro órgano a evaluar en casos sospechosos de CAEV.

Bibliografía

- Bedotti, D. y col. 2007. Descripción de un caso de Artritis – Encefalitis Caprina en la Provincia de La Pampa. V Congreso de ALEPRyCS, Mendoza.
- Contreras de Vera, A., Sánchez López, A., Corrales Romero J.C. 2003. Manifestaciones clínicas de la Artritis Encefalitis caprina. En: Revista Ovis N° 88-pp. 11-18.
- Radostits, O.M. y col. 2002. Enfermedades causadas por virus y clamidias. En: McGraw-Hill-Interamericana (Editor) Medicina Veterinaria. 9ª edición Madrid, España. pp 1023-1493.
- Lujan, L., Pérez, M., Biescas, E., Amorena, B. y Badiola, J.J. 2003. Artritis-Encefalitis Caprina: Cuadro lesional. en: Revista Ovis N°88.p.19-27.
- Trigo Tavera, F.J. 1991. La Artritis-Encefalitis Caprina. www.fmvz.unam.mx/fmvz/cienciavet/revistas/CvVol5/CVv53p.PDF. Consultado 28/5/2013.

PUESTA A PUNTO DE DOS TÉCNICAS DE PCR PARA LA DETECCIÓN DEL VIRUS DE LA ARTRITIS-ENCEFALÍTIS CAPRINA

Abdala A.M.¹; Alvarez, L.²; Robles, C.³

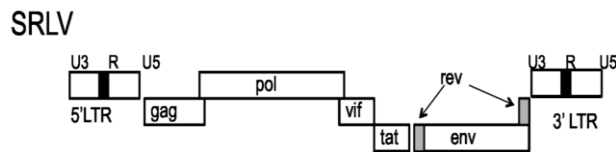
¹Grupo de Salud Animal INTA Bariloche/CONICET; ²IPATEC/CONICET Bariloche; ³Grupo de Salud Animal. INTA Bariloche

Introducción

Los lentivirus de los pequeños rumiantes (SRLV), se ubican dentro de la familia Retroviridae, género Lentivirus. Dentro de los SRLV se encuentran el Virus de la Artritis Encefalitis Caprina (CAEV) y el Virus Maedi-Visna (MVV).

La artritis encefalitis caprina (AEC) es una enfermedad que afecta principalmente a caprinos y produce diferentes formas clínicas (pulmonar, mamaria, nerviosa o articular). La vía de transmisión principal es la horizontal, a través de la leche o el calostro. La enfermedad tiene distribución mundial, con prevalencias de hasta un 80% en cabras lecheras, principalmente en países industrializados.

Figura 1. Estructura genómica de los virus SRLV.



Los SRLV se clasifican en diferentes grupos genotípicos que varían del 25-37% en las secuencias *gag* y *pol*. Ramirez y col (2013), describen los genotipos A, B, C, D y E, dentro de los cuales se determinan subtipos que difieren del 15 al 27% en secuencia. Los genotipos principales son el A, que fueron aislados originalmente de ovejas (tipo MVV) con subtipos de 1 a 15 y el genotipo B aislados originalmente de cabras, tipo CAEV, con 3 subtipos.

En la Argentina se comienza a sospechar de la presencia de estos virus a partir de la aparición de animales positivos a la serología, en sueros ovinos y caprinos de la Patagonia en el año 2001 (Robles y col., 2003).

Durante el 2016 en la provincia de Salta se registró un brote con sospecha de CAEV, y se tomaron muestras de una población caprina afectada por un proceso grave caracterizado por artritis crónica y adelgazamiento generalizado.

Estas muestras se remitieron al Instituto de Agrobiotecnología CSIC-UPNA, Pamplona, España, donde se analizaron muestras de células blancas sanguíneas (*buffy coat*) de caprinos de diferentes edades mediante PCR (Grego y col., 2007). En esta ocasión se detectó de manera inequívoca la presencia de

SRLV y se lo clasificó por secuenciación y alineamiento del gen *gag* como virus CAEV. Además, se analizaron muestras de sueros provenientes del mismo grupo de caprinos mediante técnicas de ELISA, corroborando el resultado de la PCR.

A partir de los casos registrados y confirmados de afección por lentivirus en nuestro país, se decidió trabajar en la puesta a punto de un diagnóstico molecular que permita detectar la presencia de SRLV en muestras biológicas.

Materiales y Métodos

En este trabajo se ensayaron dos diseños de PCR, uno descripto ampliamente en la bibliografía y otro de diseño propio. Ambos diseños amplifican zonas diferentes del genoma.

En el primer caso, se seleccionó una PCR que amplifica la región LTR del virus ya que la misma se encuentra altamente conservada, por lo que se asumió que funcionaría con muestras locales. Por otro lado, la PCR de diseño propio, amplifica sobre el gen *gag* y se basó en secuencias nucleotídicas provenientes de cepas circulantes en nuestro país.

Se probó el diseño de PCR de Rosati y col. (1995), que amplifica un fragmento de 291pb de la región LTR altamente conservada. Se aplicó este diseño sobre 1 y 5 μ l (con 20 y 25 μ l de volumen final de reacción respectivamente) de ADN templado control positivo de CAEV obtenido de aislamiento viral previo (25,5 ng/ μ l) y sobre agua como control negativo. Se utilizaron las condiciones de reacción y ciclado descriptas en el trabajo citado.

Para el diseño de la segunda PCR se trabajó con de las secuencias nucleotídicas provistas a partir de las muestras del brote registrado en 2016 por el laboratorio de Pamplona, correspondientes a 700pb del gen *gag*. Según lo informado, las secuencias correspondían a 4 muestras de caprinos de Salta que resultaron positivos a la PCR. A partir del alineamiento múltiple de estas secuencias, se diseñaron cebadores sobre zonas conservadas en las 4 secuencias. Los cebadores elegidos, amplifican 104pb, lo que permitirá realizar en un futuro un diseño de PCR en Tiempo Real. Se puso a punto esta PCR cambiando las condiciones de ciclado y temperatura de apareamiento, hasta obtener una banda visible sin presencia de productos inespecíficos. Se determinó el límite de detección utilizando como templado de la

reacción diluciones seriadas del ADN control cuya concentración se cuantificó con Nano Drop (Thermo Science).

Resultados

Al ensayar la PCR sobre el gen LTR en ADN control, se obtuvo un resultado positivo en ambos volúmenes finales de reacción, con amplificación específica de esta zona del virus CAEV, siendo la única banda observada del tamaño esperado (Figura 2).

Figura 2. Productos de PCR de Rosati y col. en gel de agarosa teñidos con Gel Red utilizando como templado ADN: 1 μ l y 5 μ l de ADN control positivo; (-): control negativo, M: Marker.

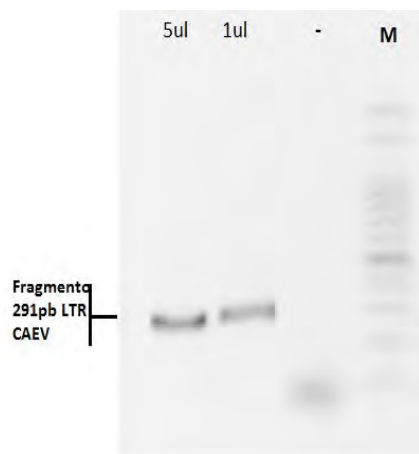
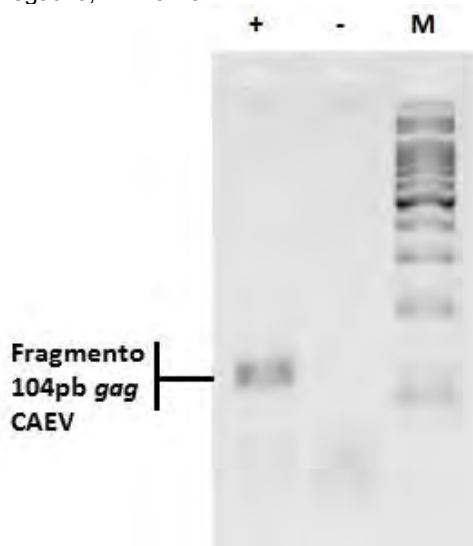


Figura 3. Productos de PCR de diseño propio en gel de agarosa teñidos con Gel Red utilizando como templado ADN: +: ADN control positivo; (-): control negativo, M: Marker.



Con respecto a la PCR de diseño propio, en primer lugar, se establecieron las condiciones de reacción y ciclado más adecuadas para la PCR a punto final. Se ensayó utilizando 1 μ l del mismo ADN control descrito anteriormente.

Se obtuvo un resultado positivo para la amplificación de la región del gen gag de tamaño esperado sin observarse productos inespecíficos (Figura 3).

Para esta PCR puesta a punto se determinó el límite de detección en 0,0025 ng/ μ l.

Discusión

Ambas reacciones de PCR puestas a punto en este trabajo lograron identificar de forma específica el ADN viral. La PCR de diseño propio fue efectiva para detectar el virus CAEV circulante lo cual es ventajoso frente a la PCR de Rosati y col ya que está diseñada con secuencias locales.

Ambas PCRs, a futuro serán probadas en ADN extraído de muestra biológica, como así también en ADN del MVV, que, por las secuencias utilizadas, se espera también sea detectado.

Conclusión

LA PCR diseñada y puesta a punto es una herramienta para la detección de CAEV y podría usarse para la confirmación del diagnóstico en animales con serología positiva a AEC.

Bibliografía

- Grego, E., Bertolotti, L., Quasso, A., Profiti, M., Lacerenza, D., Muz, D., Rosati, S., 2007. Genetic characterization of small ruminant lentivirus Italian mixed flocks: evidence for a novel genotype circulating in a local goat population. *The Journal of general virology* 88, 3423-3427.
- Ramírez, R. Reina, B. Amorena, D. de Andrés, H.A. Martínez. 2013. Small ruminant lentiviruses: genetic variability, tropism and diagnosis *Viruses*, 5, pp. 1175-1207
- Robles C; Layana, J, Cabrera,R, Raffo, F. Cultip, R. 2003. Estudio serológico retrospectivo de Maedi (Neumonía Progresiva) en Ovinos y Artitis Encefalitis en Caprinos de Patagonia Argentina. *Revista de Medicina Veterinaria*. Vol.84 (3):96-99.
- Rosati S.,Kwang J,Keen J. Genome analysis of North American small ruminant lentiviruses by polymerase chain reaction and restriction enzyme analysis, *J. Vet. Diagn. Invest.*, 7 (1995), pp. 437-443.

OBTENCIÓN Y EVALUACIÓN DE CULTIVOS PRIMARIOS DE ORIGEN EPITELIAL PARA EL AISLAMIENTO DE LOS VIRUS CAEV Y ORFV

Zabal, O.¹; Dodero, A.M.²; Reina, R.³; Valenzano, M.⁴; Peralta, A.V.⁴

¹Instituto de Virología, INTA Castelar; ²Area de Sanidad Animal INTA Salta; ³IdAB CSIC-UPNA, Navarra España, ⁴CONICET-Instituto de Biotecnología, INTA Castelar

Introducción

En el diagnóstico confirmatorio de enfermedades virales se suelen emplear técnicas serológicas (ELISA e inmunodifusión en agar AGID) o moleculares (PCR, RT-PCR) para la detección de los agentes virales. Si bien, muchas veces los reactivos necesarios suelen ser caros y poco accesibles al evaluar un gran número de muestras. Además, en muestras biológicas donde la carga viral suele ser baja, las técnicas antes mencionadas suelen presentar limitaciones. La forma de confirmar la presencia del agente viral es obtener su aislamiento en cultivo de células, siguiendo la aparición del efecto citopático característico para cada uno de ellos. Sin embargo, es habitual que las cepas de campo no se adapten a su multiplicación *in vitro* en líneas celulares establecidas, por lo que muchas veces es necesario recurrir a los cultivos primarios.

El objetivo de este trabajo consistió en la generación de un cultivo primario de origen epitelial ovino y caprino con el fin de obtener un sistema celular que permita el aislamiento de los virus de artritis y encefalitis caprina (CAEV) y el virus ORF (ORFV), agente causal del Ectima contagioso, a partir de muestras sospechosas.

Materiales y Métodos

Se utilizaron ovinos y caprinos adultos, se los inmovilizó, se realizó la tricotomía de la zona inguinal y los lavados quirúrgicos para luego inyectarle subcutáneamente lidocaína 1% con epinefrina en forma de ele (L) y una vez insensibilizada la zona, se realizó una biopsia, en un primer ensayo de 1cm cuadrado de piel, mientras que en los ensayos subsiguientes se extrajeron explantes longitudinales de 1cm x 5cm. El tejido fue colocado inmediatamente en PBS adicionado con una solución de antibióticos-antimicótico (ATB/ATM) (Penicilina 100U/ml, Streptomycin 100g/ml, Amphotericina B 2,5g/ml, GIBCO) para su traslado refrigerado hasta el laboratorio en menos de 24h. La herida del animal se suturó con puntos simples, desinfectando y previniendo la producción de miasis con el uso de piretroides en aerosol.

El tejido fue lavado dos veces con PBS-ATB/ATM y a continuación se procedió a una disgregación mecánica y enzimática, mediante agitación en una solución de tripsina 0,25%

durante 20min a 37°C. Finalizado ese tiempo, se recuperó la solución de tripsina y se centrifugó (800 g, 5 min a temperatura ambiente) obteniéndose el pellet de células. Se repite el procedimiento 5 veces hasta procesar completamente el tejido disgregado.

Todos los pellets celulares recuperados fueron sembrados en botellas de cultivo T75 con medio MEM-D y 10% de suero fetal bovino, con el agregado de una solución de ATB/ATM.

Los cultivos primarios obtenidos Eov (epitelio ovino) y Eca (epitelio caprino) fueron evaluados tomando diferentes criterios: recuperación celular, números de pasajes, viabilidad luego de un ciclo de criopreservación y susceptibilidad a los virus CAEV y ORFV.

Los inóculos virales utilizados para CAEV consistieron en líquido articular de animales con síntomas clínicos y ELISA positivo, mientras que las muestras para ORFV consistieron en el macerado con nitrógeno líquido de costras de ovinos con diagnóstico clínico de Ectima y PCR positiva. Se prepararon monocapas de Eov y Eca en placas de 12 wells y se desafiaron con los inóculos de CAEV y de ORFV y se las observó hasta la aparición del efecto citopático característico para cada virus.

Resultados

En primer lugar, se comparó la ventaja de procesar biopsias de piel de 1cm² o de corte longitudinal 1cm x 5cm. La utilización de explantes longitudinales no aumentó la cantidad de células de tipo fibroblastos capaces de adherirse a una placa de cultivo. Este resultado muy probablemente se podría revertir si se incrementa el tiempo o el número de incubaciones con tripsina, así como incrementar la disgregación mecánica antes del procedimiento enzimático.

Las células epiteliales obtenidas por disgregación del tejido demoraron entre 10 y 20 días en desarrollar una monocapa de células adheridas a una botella T75, se observó que el porcentaje de células tipo fibroblastos fueron las que desarrollaron y completaron la monocapa celular. A partir de estos cultivos se realizaron subcultivos y se criopreservaron en los pasajes n°2, 4 y 6 (en medio MEMD, 20%SFB y 10% DMSO). Luego de un mes crioconservadas (en un ultrafreezer de -150°C), se descongelaron algunos viales y se observó una viabilidad del 90% y un crecimiento normal.

A partir del pasaje n°8 para el cultivo Eov y del n°6 para Eca se observó que la mayor parte del cultivo entró en un estado de senescencia. A los pocos días, se observó la selección de clones celulares, tipo fibroblásticos. Estos clones celulares fueron subcultivados en botellas T25 hasta que completaron la monocapa, momento en el cual fueron criopreservado. Con estos clones celulares se intentará obtener una línea establecida y sensible a dos virus de ovinos y caprinos: CAEV y ORFV.

En los ensayos para evaluar estos cultivos primarios en cuanto a la susceptibilidad a la infección con los virus CAEV y ORFV se utilizaron los pasajes n°4 para Eca y n°6 para Eov.

En el caso de las células infectadas con líquido articular se observó la formación de sincicios (Figura 1), efecto citopático característico del virus CAEV en cultivo; mientras que en el caso de las células infectadas con ORFV se observó que las células se redondean, pierden adherencia al plástico y forman grumos (Figura 2), efecto citopático descrito en la bibliografía para el virus Orf.

Figura 1. Susceptibilidad del cultivo Eca a la infección por CAEV. A): Monocapa de células Eca sin infectar. B): Células Eca infectadas con una muestra de líquido articular positivo para CAEV por PCR.

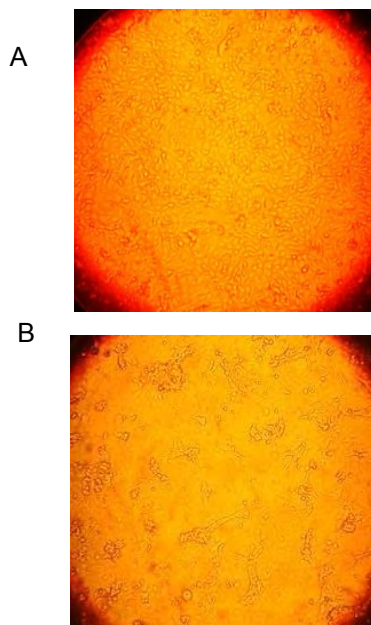
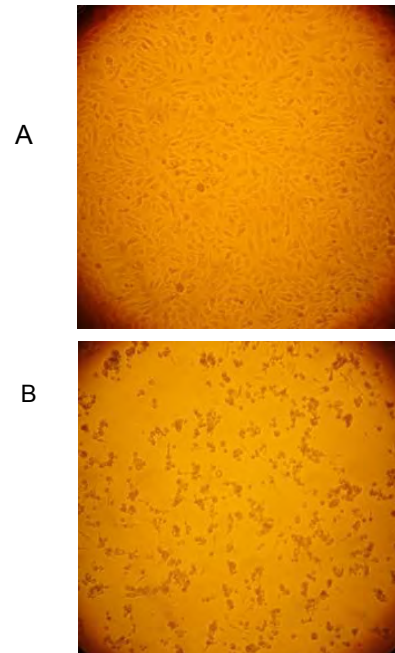


Figura 2. Susceptibilidad del cultivo Eov a la infección por ORFV. A): Monocapa de células Eov sin infectar. B): Células Eov infectadas con una muestra de macerado de costra positiva para ORFV determinada por PCR.



Discusión

Fue posible obtener cultivos primarios epiteliales de origen ovino y caprino, estables al menos hasta el pasaje n°8, con alta recuperación luego de su criopreservación y que permite observar el efecto citopático esperado para los virus CAEV y ORFV.

Estos cultivos resulta una valiosa herramienta para lograr el aislamiento de cepas de campo tanto de CAEV como de ORFV, que permitirán luego su confirmación molecular, caracterización y determinación de la variabilidad entre las cepas que circulan en nuestro país.

Agradecimientos

Al Dr. Javier Schapiro (Instituto de Patología, CICVyA); a los veterinarios Juan Micheloud, Virginia Araoz y Luis Colque (INTA Salta) y a los señores José Alfaro y Emilio Alfaro (responsables del cuidado de los animales en INTA-Salta).

Bibliografía

- Kottaridi *et al.* 2006. *Veterinary Microbiology* 116: 310-316.
- Kuroda *et al.* 1999 *J Vet Med Sci*, 61:749-753.
- Rolland *et al.* 2004 *J. Virol. Methods*. 118: 123-130.

PUESTA A PUNTO DE UN ENSAYO DE PCR PARA LA DETECCIÓN DE LENTIVIRUS EN PEQUEÑOS RUMIANTES: CAEV Y MVV

Raia A¹, Rossanigo C.², Trono K.¹⁻³, Alvarez I.¹⁻³

¹Instituto de Virología, INTA Castelar; ²Lab. Sanidad Animal, INTA San Luis; ³CONICET

Introducción

Los lentivirus de pequeños rumiantes (small ruminant lentiviruses – SRLVs) son miembros de la familia de los Retrovirus y comprenden al Virus Maedi-visna (VMV) y al Virus de la Artritis-encefalitis caprina (Caprine Arthritis-Encephalitis, Virus CAEV) que infectan a ovejas y cabras. La mayoría de los animales infectados son asintomáticos, solo un porcentaje desarrollan un síndrome clínico caracterizado por una enfermedad inflamatoria multisistémica que afecta pulmones, sistema nervioso central, articulaciones y glándulas mamarias. A pesar de una fuerte respuesta inmune, el virus no puede ser eliminado y el animal permanece como portador por el resto de su vida, y puede transmitir la enfermedad a animales sanos. MVV y CAEV pueden ser aislados de explantos de tejidos o de fluidos mediante co-cultivo con células permisivas por detección de efecto citopático. Es una técnica muy laboriosa y requiere de un laboratorio con gran equipamiento. El mejor método diagnóstico es la serología, ya que la detección de anticuerpos es indicativo que el animal contrajo la enfermedad. Los ensayos de PCR son muy útiles como métodos complementarios a los serológicos, especialmente durante el período de ventana o ante la presencia de anticuerpos calostrales. Las PCR permiten además confirmar los hallazgos de cultivo celular y realizar estudios de información epidemiológica molecular. Las muestras elegidas para la realización de ensayos de PCR son las células mononucleares de sangre periférica (PBMC), leche/calostro, líquido sinovial.

Según el manual de enfermedades terrestres de la OIE, el diagnóstico de la infección se realiza por detección de anticuerpos circulantes en sangre. Sin embargo, hay situaciones en las cuales resulta necesario contar con una alternativa diagnóstica de detección directa.

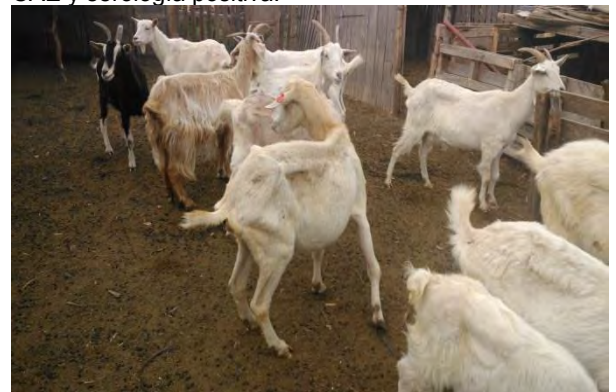
Con el objetivo de disponer de una herramienta de diagnóstico rápida y complementaria para la detección de CAEV/MVV, se estandarizó la técnica de PCR según fue descrita por Olech y col. (2012) con algunas modificaciones, y se evaluó su performance al aplicarse para el diagnóstico de MVV y CAEV en muestras de

campo procedentes de casos naturales y de aislamientos en cultivo celular.

Materiales y Métodos

Las muestras fueron obtenidas de cabras con sintomatología de CAE y serología positiva por ELISA comercial (IDEXX) de un caso clínico ocurrido en la localidad de Donovan provincia de San Luis (Foto 1). Se utilizó la cepa K1514 prototipo de MVV amplificada en células GSM (membrana sinovial de cabra) para la puesta a punto del ensayo de PCR, como fuente de virus (RNA) y de provirus (DNA proviral). Se extrajo DNA y RNA de las distintas muestras utilizando kits comerciales. A partir del DNA extraído se detectó el provirus de CAEV/MVV mediante una reacción de PCR anidada del gen *gag* de CAEV/MVV según Olech y col (2012). Para la detección de ARN viral se realizó una reacción de transcripción reversa (RT) a partir de ARN extraído y tratado con endonucleasa RQ1 RNase free DNase para degradar el DNA. La reacción de RT se llevó a cabo con M-MLV Reverse Transcriptase y *random* hexámeros. Una vez obtenido el ADN copia (ADNc) se amplificó por la misma reacción de PCR. Se estableció la temperatura de *annealing* de la reacción de PCR mediante un gradiente de temperatura. Se determinó el límite de detección de cada una de las reacciones utilizando diluciones de un lisado de células GSM infectadas con el virus K1514. Se analizaron distintos tipos de muestras con la PCR puesta a punto.

Foto 1. Majada de cabras son sintomatología de CAE y serología positiva.



Resultados

A partir de DNA extraído de lisado de células GSM infectadas con MVV cepa K1514 se estableció el ciclado de la reacción de PCR donde se observaban la menor cantidad de bandas inespecíficas (Figura 1). Fue posible detectar CAEV/MVV en muestras de sangre entera, homogenatos de tejidos y en lisados celulares de co-cultivos de células GSM con líquido sinovial, PBMC y homogenatos de tejidos (Tabla 1).

El límite de detección observado para la reacción de PCR a partir de RNA fue mayor

que a partir de DNA cuando se analizaron diluciones de ambos ácidos nucleicos. Esta observación se repitió cuando se contaminaron experimentalmente diferentes matrices como sangre entera, leche, homogenato de tejidos con diluciones del lisado celular de GSM infectado con MVV-K1514. La reacción de PCR fue específica para CAEV/MVV ya que ácidos nucleicos de diferentes patógenos de ovinos y caprinos resultaron negativos cuando fueron analizados con este ensayo de PCR.



Figura 1. Ensayo de PCR a partir de DNA de MVV cepa K 1514. Tamaño esperado: 990 pb

Tabla 1: Resultados obtenidos en las distintas muestras analizadas por PCR

Muestras		RNA	DNA
Cultivo de PBMC		+	+
Cultivo de Líquido sinovial		+	+
Sangre entera		+	+
Homogenatos	Membrana sinovial (MS)	+	+
	Glándula mamaria (GM)	+	-
	Linfonódulo mamario (LM)	-	-
	Pulmón (P)	-	-

Discusión

De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente trabajo, se pudo poner a punto un ensayo de PCR para la detección de CAEV/MVV, con resultados confiables. Esto permite contar con una herramienta de diagnóstico rápida, complementaria a la serología, para la detección de animales infectados con CAEV/MVV, así como para la detección de los agentes en los ensayos de aislamiento a partir de cultivo de células.

Bibliografía

-Leroux, C.; Cruz, J.C.M.; Mornex, J.F. SRLVs: A genetic continuum of lentiviral species in sheep and

goats with cumulative evidence of cross species transmission. *Curr. HIV Res.* 2010, 8, 94–100.

-Olech, M., Rachid, A., Croisé B., Kuzmak J., Valas S. Genetic and antigenic characterization of small ruminant lentiviruses circulating in Poland. *Virus Res.* 2012 Feb.163(2):528-36. doi: 10.1016/j.virusres.2011.11.019

-Trezeguet M. A., Marcos Fabián Suárez, Leonardo, Enrique Barral, Florencia Periolo, Celia Esther Maidana, Patricio Carlos Farías, Carlos Eduardo Rodríguez, Rosa Teresa, Debenedetti, Andrea Marcos y Bernardo Cosentino. Informe del Senasa vol. 1, N.º 1, junio-agosto 2013

-OIE, Organización Mundial de Sanidad Animal. Artritis/encefalitis caprina y Maedi-Visna. Manual of Diagnostic Test and Vaccines for Terrestrial Animals (mammals, birds and bees). 2008b. Capítulo 2.7.3/4.

ASPECTOS CLÍNICOS DE “LANA SISAL” O “LANA ENGRASADA” EN OVINOS MERINO DE LA PATAGONIA

Robles, C.A.¹; Cabrera, F.R.¹; Marcellino, R.¹; Garramuño, J.M.²

¹Grupo de Salud Animal, INTA Bariloche; ²Campo Experimental Pilcaniyeu. INTA Bariloche

Introducción

La Lana sisal es una enfermedad de etiología desconocida que afecta a ovinos adultos solamente de la raza Merino y hasta el presente su distribución se circunscribe a la Patagonia Argentina habiendo sido confirmada en las provincias de Río Negro, Neuquén y Chubut. Esta afección también es conocida como Lana engrasada, Lana manchada, Dermatitis, Hongo, etc.

Es muy escasa la información sobre esta enfermedad por lo cual se inició una tarea de investigación para caracterizarla clínica y epidemiológicamente, determinar su etiología y de ser posible lograr un método para su control. En esta oportunidad se presenta la información clínica y epidemiológica obtenida del seguimiento de un lote de animales afectados y sus correspondientes controles sanos, en el Campo Experimental del INTA Bariloche.

Materiales y Métodos

En Mayo de 2008 se constituyó un lote de 8 animales Merino afectados de Lana Sisal provenientes de diferentes zonas de la Patagonia.

Se los confinó en un potrero junto con 7 animales Merinos sanos provenientes de un establecimiento libre de la enfermedad. Todos los animales fueron caravaneados y al momento de la esquila en Diciembre del mismo año, se los revisó clínicamente y se tomó información sobre edad, sexo, coloración de la lana, exceso de grasa y fibras aglutinadas, estado de humedad/sequedad de la lana, coloración y estado de la piel, facilidad de la piel para desgarrarse, exudado seroso o purulento en piel, presencia de prurito y localización de áreas afectadas.

Resultados

En la Tabla 1 pueden observarse los resultados de los parámetros estudiados en cada uno de los 8 animales afectados.

Al comparar los datos de los animales enfermos (Tabla 1) respecto a los controles, se comprobó que los ovinos afectados tenían un exceso de grasa, presencia de caspa, fibras de lana aglutinadas, y coloración de la piel más rosada que los sanos. En cuanto a la facilidad de la piel para desgarrarse, los sanos (57%) fueron más sensibles que los enfermos (37%). Ni en sanos y ni en enfermos hubo prurito, exudado seroso o pus en la piel.

Tabla 1. Principales características evaluadas en animales afectados clínicamente de Lana Sisal.

Animal Nº	1	2	3	4	5	6	7	8
Edad en años	5	6	2	1	2	1	6	7
Coloración de la lana en zona afectada	Blanca	Amarillenta	Amarillenta	Blanca	Amarillenta	Amarillenta	Amarillenta	Amarillenta
Exceso de grasa en lana	Si	Si	Leve	Leve	Si	Leve	Si	Si
Caspa	Leve	Si	Leve	Leve	Si	No	Si	No
Lana húmeda o seca	Seca	Húmeda	Húmeda	Húmeda	Húmeda	Húmeda	Húmeda	Húmeda
Fibras aglutinadas	Leve	Severa	Leve	Leve	Severa	Leve	Severa	Severa
Coloración de la piel	Rosada	Roja	Rosada	Rosada	Rosada	Roja	Rosada	Rosada
Congestión en piel	No	Si	No	No	No	Si	No	No
Facilidad de la piel para desgarrarse	No	Si	Si	No	Si	No	No	No
Prurito	No	No	No	No	No	No	No	No
Exudado seroso en piel	No	No	No	No	No	No	No	No
Pus en piel afectada	No	No	No	No	No	No	No	No
Grado de afectación	Poco afect	Muy afec	Muy afect	Poco afect	Poco afect	Poco afec	Muy afec	Afectado

Respecto a la coloración de la lana en los animales sanos, en general estuvo dentro de matices blancos, mientras que en los enfermos

predominaron las tonalidades amarillentas en las áreas afectadas.

No hubo ningún animal que tuviera todo el

Vellón afectado. Por el contrario la característica fue que la afección se presentó en forma de manchones en el vellón. Estos manchones son de color oscuro y la superficie del manchón está levemente deprimida respecto a la lana sana circundante (Foto 1). Estos manchones estuvieron ubicados principalmente en zonas del cuello, parte delantera de la escápula, zona de la cruz, flancos, zona posterior de los cuartos posteriores, grupa y vacío. No hubo lesiones en las partes bajas de los animales. Al abrir el vellón en las zonas afectadas se comprobó que las fibras de lana estaban aglutinadas (Foto 2) en contraste con las zonas sanas donde la lana presentaba un aspecto totalmente normal.

Trás 8 meses de convivencia, ninguno de los 7 animales sanos se contagió la enfermedad (Lana Sisal) de los animales enfermos.

Al momento de la esquila en las áreas donde el vellón estaba afectado se pudo comprobar que la piel tenía un brillo y un color diferente al resto de la piel sana, permitiendo identificar claramente los sectores de piel enferma (Foto 3).

Foto 1. Manchones sobre el vellón característicos en animales con Lana Sisal.



Foto 2. Fibras engrasadas y aglutinadas al abrir el vellón en un área afectada (manchón).



Foto 3. En la zona dorsal del animal se puede apreciar una mancha irregular color blanquecino en correspondencia con un área de vellón afectado.



Discusión

Los animales en ensayo fueron elegidos tras revisar el total de las majadas en 4 establecimientos. Como puede observarse hay animales jóvenes de 2 dientes hasta animales viejos de refugo, pero en ningún caso se encontraron corderos o borregos diente de leche afectados. Si bien se eligieron hembras para el ensayo, se pudo constatar la presencia también de machos afectados en los 4 establecimientos de origen.

Un dato sorprendente fue el de la facilidad de la piel para desgarrarse, que contradice la creencia de que se trata de una característica de los animales afectados de Lana sisal. En este caso el 57% de los controles sanos presentaron dicha característica contra el 37% de los afectados de Lana sisal. Posiblemente esto pueda estar relacionado con el estado nutricional, niveles de stress, el largo de la lana, etc. y no con la enfermedad bajo estudio. Durante el presente período de estudio no se pudo comprobar la autocuración de ningún animal afectado ni el contagio de los animales enfermos hacia los sanos utilizados como control.

Bibliografía

- Lana sisal" o "Lana manchada": Una afección de ovinos en la Patagonia, Argentina. 1992. Olaechea, F V; Robles, C.A; Uzal, F A ; Duga, L - XIII Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias, 5-9 Octubre. Santiago, CHILE.
- Waxy wool, Robles, C.A. In: Diseases of Sheep. 2007. Ed. Ian Aitken, Blackwell Publishing, 4th edition. Oxford, London, UK.

HALLAZGOS MICROBIOLÓGICOS EN OVINOS MERINO DE LA PATAGONIA ARGENTINA AFECTADOS CON LANA SISAL O LANA ENGRASADA

Marcellino, R.; Robles, C.
Grupo de Salud Animal INTA Bariloche

Introducción

La afección llamada "lana sisal" o "lana engrasada" presenta una amplia distribución en ovinos Merino de la Patagonia Argentina. El vellón de los animales afectados se caracteriza por presentar áreas en forma de manchas o bandas oscuras y deprimidas, de tamaño y distribución variable. En las áreas afectadas las fibras se aglutinan y ondulan por un exceso de grasa o sarda formando hilos de color amarillo, en los animales esquilados, estas zonas se ven color blanco tiza sobre la piel.

Si bien la enfermedad es reconocida desde hace más de una década, no está totalmente identificado el agente etiológico de esta afección ni como se transmite entre los animales. Es probable que la lana sisal esté relacionada con una enfermedad descrita en Sud África denominada Bolo Disease causada por una especie no identificada de *Corynebacterium*. Dentro de este género bacteriano, los microorganismos presentan una gran diversidad, requiriéndose numerosas pruebas bioquímicas y varios días para lograr identificarlos a nivel especie. Los resultados de las pruebas varían según las técnicas y medios utilizados. Se ha desarrollado un sistema de identificación para bacilos Gram positivos corineiformes denominado API Coryne (BioMérieux, Inc., Francia). Este sistema se basa en pruebas bioquímicas estandarizadas (substratos deshidratados para la detección de 11 actividades enzimáticas y la fermentación de 8 azúcares) que generan un perfil numérico (pn) que se corresponde con una especie bacteriana. Es fácil de usar, y se obtiene el resultado en 24 hs.

El objetivo de este trabajo fue describir los hallazgos microbiológicos obtenidos de animales afectados y sanos utilizando las técnicas bacteriológicas tradicionales y evaluar el uso del sistema API Coryne, para identificar a nivel de especie los aislamientos corineiformes obtenidos.

Materiales y Métodos

Se realizaron hisopados de piel de ovinos Merino de una majada experimental compuesta por 10 animales afectados con lana sisal provenientes de diferentes establecimientos de la Patagonia y 11 animales sanos (controles). Los hisopados se frotaron firmemente sobre la piel afectada de los enfermos y piel sana de los controles. Luego se sembraron en placas de Agar Sangre Columbia, se incubaron a 37°C

con 5% de CO₂ y se observaron a las 48 hs. Se repicaron las colonias más representativas para la tinción de Gram, observación al microscopio y realización de las pruebas bioquímicas tradicionales. Las colonias que tanto macro como microscópicamente coincidieron con *Corynebacterium* (puntiformes, circulares, bordes enteros, blanco-amarillentas, levemente brillantes, convexas y no hemolíticas, bacilos grampositivos, pleomórficos, dispuestos en grupos semejantes a letras chinas o en empalizada) se seleccionaron para su identificación con API Coryne. En este último se utilizaron cepas control ATCC (*C. renale*, *T. pyogenes* y *P. acnes*) y aislamientos propios (*C. pseudotuberculosis* y *C. bovis*) y se procedió según la metodología descrita por el fabricante.

Resultados

Se obtuvieron 16 aislamientos de los cuales 10 coincidieron con las características macro y microscópicas de *Corynebacterium* (Foto 1 y 2). Esta bacteria corineiforme fue aislada de todos los animales afectados en mayor proporción que las demás colonias presentes y en algunos casos hasta en pureza, mientras que no fue aislada en ninguno de los animales controles. En algunas cepas aisladas se evidenció el desarrollo de dimorfismo, distinguible a las 48 hs de incubación. Los resultados de las pruebas bioquímicas tradicionales permitieron identificarlas como pertenecientes al género *Corynebacterium* pero no se logró determinar la especie (Tabla 1). Los 6 aislamientos restantes resultaron contaminantes ambientales o sin importancia veterinaria (*S. epidermidis*, *Bacillus* sp.).

Foto 1. Colonias de *Corynebacterium* sp.

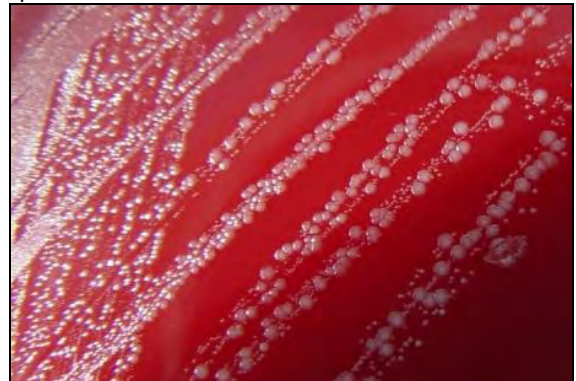
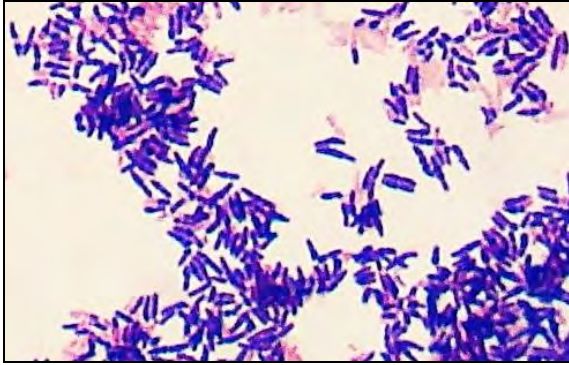
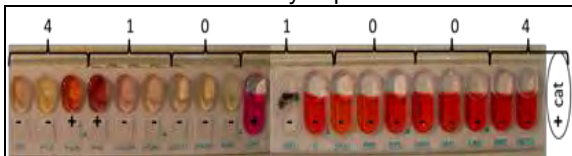


Foto 2. *Corynebacterium sp* al microscopio.**Tabla 1.** Pruebas bioquímicas realizadas a los aislamientos corineiformes.

Prueba bioquímica	Resultado
enzima oxidasa	-
enzima catalasa	+
metabolismo O/F	-/-
movilidad	-
reacción en Kligler*	-/-/-
enzima ureasa	+
indol	-
nitrito	-
gelatina	-
glucosa/lactosa maltosa/manosa celobiosa/sacarosa	Todas -

*glucosa/lactosa/producción de gas/producción de SH₂

Con el sistema API Coryne, los 10 aislamientos corineiformes fueron identificados como *C. bovis*, 16 con el pn 4101004 y 1 con el pn 4501004 (difieron en la prueba de β galactosidasa) (Foto 3). Las cepas ATCC y propias utilizadas como controles arrojaron patrones numéricos coincidentes en un 100% con las especies nombradas.

Foto 3. Resultado API Coryne para *C. bovis*.

Discusión

Los resultados obtenidos de las pruebas bioquímicas tradicionales permitieron identificar el bacilo corineiforme aislado de animales afectados con lana sisal como perteneciente al género *Corynebacterium*, aunque no se logró llegar al nivel de especie. A fin de poder clasificar esta bacteria por medio de la bacteriología tradicional, se debería ampliar el esquema de pruebas bioquímicas, sin descartar el uso de técnicas de biología

molecular, como la PCR, para lograr su identificación final. Estos resultados coinciden con lo descrito por otros autores que indican que la identificación tradicional de las corinebacterias es lenta por el gran número de pruebas bioquímicas que se deben realizar y las discrepancias encontradas en la bibliografía.

Con la utilización de sistema API Coryne fue posible obtener un perfil numérico inequívoco de todas las cepas aisladas de animales afectados identificado como *C. bovis*. Todas las cepas utilizadas como controles resultaron identificadas correctamente demostrando la confiabilidad del API Coryne. Además permitió obtener un resultado rápido (menos de 48 hs). En relación al desarrollo de dimorfismo en algunos aislamientos, éste fue descrito anteriormente para *C. bovis*, fortaleciendo el resultado obtenido.

El hecho de que *C. bovis* haya sido aislado sólo de los animales afectados, en algunos casos inclusive en condiciones de pureza, es un fuerte indicativo de su posible rol como agente etiológico de esta enfermedad. Sin embargo para poder confirmar esta sospecha se debería seguir trabajando para lograr la reproducción experimental de la enfermedad en animales sanos y además determinar las vías de contagio entre los animales.

El uso del sistema API Coryne, es de gran utilidad a la hora de identificar bacterias corineiformes, no solo por la confiabilidad en los resultados obtenidos, sino también por la rapidez con la que se llega a una identificación a nivel de especie.

Bibliografía

- Olaechea FV; Robles CA; Uzal FA, Duga L. 1992. "Lana sisal" o "lana manchada": una afección de ovinos patagónicos. XII Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias. Chile.
- Joubert JP, Henton MM, Whitehead CJ, Kellerman GE. 1995. Artificial transmission of Bolo disease in woolled sheep and attempted characterisation of the causative unclassified *Corynebacterium sp*. J. S. Afr. Vet. Assoc. 66(4):222-229.
- Freney J., Duperron M.T., Courtier C., Hansen W., Allard F., Boeufgras J.M., Monget D. and Fleurette J. 1991. Evaluation of API Coryne in Comparison with Conventional Methods for Identifying Coryneform Bacteria. J. Clin. Microbiol. 29(1):38-41.
- Burr H.N., Lipman N.S., White J.R., Zheng J., Wolf F.R. 2011. Strategies to prevent, treat, and provoke *Corynebacterium*-associated hyperkeratosis in athymic nude mice. J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci. 50(3):378-388.
- von Graevenitz A., Funke G. 1996. An identification scheme for rapidly and aerobically growing gram-positive rods. Zentralbl. Bakteriol. 284(2-3):246-54.

DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE LANA SISAL EN OVINOS MERINO DE LA PATAGONIA

Abdala A. M.¹⁻³; Farber, M.¹⁻²; Robles, C.³

¹CONICET, Bariloche; ²Instituto de Biotecnología, INTA; ³Grupo de Salud Animal INTA Bariloche

Introducción

La Lana Sisal es una dermatitis infecciosa de etiología incierta que afecta a los ovinos de la raza Merino de la Patagonia. Clínicamente se caracteriza por la presencia de manchones oscuros y deprimidos en el vellón, que contienen un exceso de grasa y fibras aglutinadas (Robles, 2007). En Sudáfrica se ha descrito y reproducido experimentalmente una enfermedad similar denominada Bolo disease (Joubert y col, 1995). En ambos casos se ha aislado a partir de hisopados de piel una bacteria corineforme, que no ha sido posible identificar con certeza mediante las técnicas bacteriológicas de rutina. Por identificación bioquímica tradicional y mediante el sistema API se estima que los aislamientos bacterianos podrían corresponder a la especie *Corynebacterium bovis* (*C. bovis*), bacteria involucrada en mastitis bovina. Los objetivos de este trabajo fueron: la identificación certera de los aislamientos por secuenciación el 16S ARNr, la puesta a punto de una técnica molecular por PCR para la identificación rápida y específica de los aislamientos bacterianos y la evaluación de un método de diagnóstico directo de hisopado de piel de ovinos con Lana Sisal.

Materiales y Métodos

Se trabajó con un total de 72 aislamientos bacterianos provenientes de animales afectados de Lana Sisal. Para su identificación, se secuenciaron 1393pb del gen de la subunidad 16S del ARNr de cuatro aislamientos y se asignó la especie comparando contra la base de datos GeneBank utilizando Blast (98% de similitud de secuencia). Mediante un análisis filogenético utilizando el método de máxima verosimilitud se compararon las 4 secuencias incluyendo las secuencias de la cepa de referencia de *C. bovis* aislada de bovinos (DSM 20582 y de *C. jeikeium* y *C. urealyticum*, por ser las especies más cercanas a *C. bovis*.

En base a esta identificación y para analizar el total de los aislamientos de ovinos, se puso a punto una PCR específica para *C. bovis*, que amplifica una región de 224pb también del 16S ARNr (modificada de Duga y col., 1998). A su vez se incluyeron en el análisis 21 aislamientos de *Corynebacterium spp.* obtenidos de muestras de leche de bovinos con mastitis (Laboratorio LactoDiagnóstico Sur). Para determinar la especificidad de la PCR se utilizó

como control ADN de otras especies de corinebacterias. Se determinó el límite de detección de la técnica diagnóstica, utilizando como templado diluciones seriadas al décimo de ADN de uno de los aislamientos de ovinos. Luego, se probó un método de detección molecular a partir de muestras directas de hisopados, sin necesidad de cultivo, donde además se omite el paso de extracción de ADN. Se utilizó el Kit de Thermo Fisher Plant Phire Direct PCR, según instrucciones del fabricante con adaptaciones. Para evaluar esta técnica se realizó un muestreo a campo en donde se hizo una revisión clínica de ovinos pertenecientes a un establecimiento ubicado en cercanías a Comallo, Río Negro. De 11 animales identificados como afectados, se tomaron hisopados de piel de cada uno, de una zona afectada y otro de una zona sana. Además, se tomó un hisopado de piel de 5 animales clínicamente sanos como controles. Se cultivó un hisopo de una zona enferma y otro de una zona sana de cada uno de los 11 animales en el laboratorio de microbiología y los mismos hisopos se procesaron con el Kit y se les realizó la PCR descripta.

Resultados

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

La PCR utilizada arrojó resultados positivos sobre el ADN extraído del total de los 72 cultivos de aislamientos de casos clínicos de Lana Sisal. Los aislamientos de *Corynebacterium spp.* de leche bovina también resultaron positivos a la PCR diagnóstica. La especificidad de la técnica (Figura 2) se comprobó mediante el resultado negativo a la amplificación de ADN de otras especies de corinebacterias. El límite de detección de esta PCR es de 0,01 ng/μl.

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

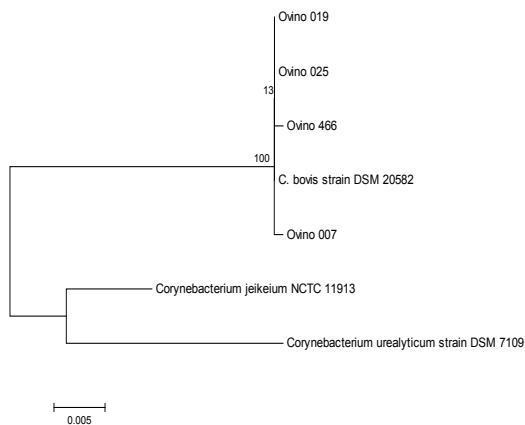


Figura 2. Productos de PCR en gel de agarosa teñidos con Gel Red utilizando como templado ADN de: 1 y 2: cepas de ovinos, 3 y 4: cepas de bovinos, 5: *C. pseudotuberculosis*, 6: *C. renale*, 7: *C. freneyi*, 8: *T. pyogenes*, 9: control negativo, M: Marker.

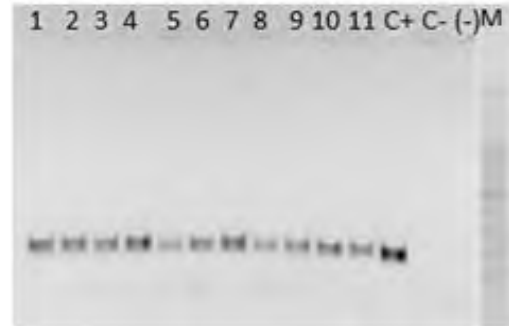


Luego de poner a punto la PCR para la identificación de *C. bovis* desde cultivos bacterianos, se procedió a probarla sobre muestras directas.

Al cultivar los hisopados de piel del muestreo realizado en la localidad de Comallo, se observó crecimiento positivo, compatible con *C. bovis* tanto en morfología de colonia como en tinción de Gram, en 10 de las 11 muestras provenientes de zonas afectadas. Por su parte, no hubo crecimiento positivo en cultivos de ninguna zona sana de esos mismos animales ni de hisopados de piel de los animales controles clínicamente sanos.

Al realizar el diagnóstico molecular que consiste en el procesamiento directo de los mismos hisopos con el Kit de Thermo Fisher Plant Phire Direct PCR, y la aplicación de la PCR descrita sobre esos extractos, se detectó *C. bovis* en todos los hisopados de zonas afectadas de las 11 muestras y se obtuvo resultado negativo en zonas sanas y animales controles (Figura 3).

Figura 3. Gel de Agarosa teñido con GelRed de la PCR del Kit con los siguientes productos de PCR sembrados en las calles de izquierda a derecha: 1-11 Zona enferma de animales afectados, C+ ADN de cepa de *C. bovis*, C- ADN de cepa de *C. pseudotuberculosis*, (-) agua, M: Marker.



Discusión

El análisis genético de los aislamientos obtenidos de lesiones de Lana Sisal, permitió identificarlos fehacientemente como *C. bovis* siendo el primer reporte del aislamiento de esta especie en ovinos. En el gen analizado no se detectaron diferencias con la cepa de referencia de *C. bovis* aislada de bovinos, lo que no descarta diferencias genéticas en otras regiones del genoma.

La PCR puesta a punto permite realizar la identificación de aislamientos de *C. bovis* provenientes de muestras tanto de ovinos como de bovinos. Por su parte se desarrolló un método que permite el diagnóstico molecular de hisopados de forma directa sin necesidad de cultivo ni extracciones de ADN complejas.

Conclusión

El método de diagnóstico molecular puesto a punto permitió realizar la identificación de *C. bovis* de forma rápida y directamente de la muestra de hisopado tomada a campo. Esta técnica podría reemplazar a la identificación tradicional mediante pruebas bioquímicas que para corinebacterias es dificultosa, en general no permite arribar a una clasificación certera y requiere varios días de trabajo.

Bibliografía

- Robles, C. 2007. South America: Patagonia. In: Diseases of sheep, Ed. Aitken, Blackwell, UK, 610 pág.
- Joubert, JP, Henton, MM, Whitehead, CJ, Kellerman, GE. 1995. Artificial transmission of Bolo disease in woolled sheep and attempted characterisation of the causative unclassified Corynebacterium sp. JSAfrVet Assoc, 66 (4):222-229.
- Duga S, Gobbi A, Asselta R, Crippa L, Tenchini ML, Simonic T, Scanziani E. (1998) Analysis of the 16S rRNA gene sequence of the coryneform bacterium associated with hyperkeratotic dermatitis of athymic nude mice and development of a PCR-based detection assay. Mol Cell Probes, 12 (4): 191-199.

ANÁLISIS GENÓMICO COMPARATIVO DE *Corynebacterium bovis* AISLADO DE CASOS CLÍNICOS DE LANA SISAL

Abdala, A.M.¹⁻³; Farber, M.¹⁻²; Robles, C.³

¹CONICET; ²Instituto de Biotecnología, INTA Castelar; ³Grupo de Salud Animal INTA Bariloche

Introducción

La Lana Sisal es una dermatitis infecciosa que afecta a los ovinos de la raza Merino. Las lesiones consisten en manchones oscuros y deprimidos en el vellón, donde se encuentra un exceso de grasa y las fibras aglutinadas (Robles, 2007). Clínicamente las lesiones se observan como áreas deprimidas y oscuras del vellón que poseen un exceso de grasa. De las lesiones de piel de animales afectados se aisló de forma consistente, una bacteria que fue identificada por métodos bacteriológicos y moleculares como *Corynebacterium bovis* (*C. bovis*) perteneciente al phylum Actyobacteriales, bacterias Gram positivas de alto contenido de GC. *C. bovis* es una bacteria lipofílica que suele ser aislada de leche vacuna siendo patógeno causal de mastitis clínica y subclínica (Watts y col. 2000). La cepa de referencia *C. bovis* DSM 20582 fue aislada de ubre bovina (Brooks & Barnum 1984), y su genoma secuenciado (NCBI: NZ_AENJ000000000.1; Schröder y col. 2012) posee 2,522,962bp en 503 contigs.

En este trabajo reportamos la secuenciación genómica de dos aislamientos de hisopados de piel de ovinos con Lana Sisal: IntaBari-170/08-019 y 001, y su comparación con el genoma de referencia de origen bovino.

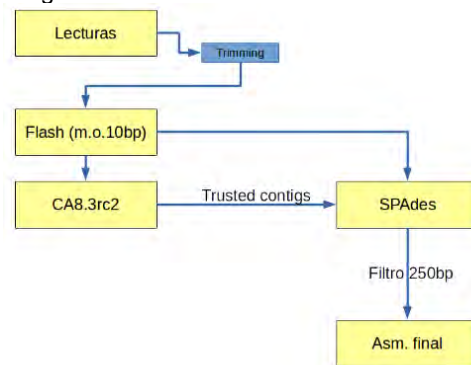
Materiales y Métodos

C. bovis IntaBari- 170/08-019 y 170/08-001 fueron aisladas de hisopados de piel de lesiones de animales afectados de las provincias de Río Negro y Chubut respectivamente. Los aislamientos se encontraban conservados en nitrógeno líquido y fueron recuperados sembrando en placas de Agar Sangre con 5% de sangre de Carnero por 72hs en una atmósfera con 5% de CO₂. Se extrajo DNA genómico utilizando el kit DNeasy (QUIAGEN), se construyeron librerías de extremos pareados y se secuenciaron mediante un Illumina Miseq (Unidad de Genómica INTA, CIPVyA). La secuenciación de la cepa 019 arrojó un total de 3056444 reads y la cepa 001 un total de 2470580 reads, todas de 250pb, resultando en una cobertura mayor a 250X en ambos casos. Las reads se cortaron por calidad y por presencia de adaptadores. Se realizó un ensamblado de novo utilizando Flash, Celera y Spades (Figura 1).

El análisis genómico comparativo entre los genomas provenientes de ovinos con Lana Sial

y del del genoma de referencia se realizó a diferentes niveles. A nivel general se utilizó el cálculo del ANI (identidad nucleotídica promedio) de a pares, que en un alineamiento global de los genomas. También se realizó a nivel de SNPs (polimorfismos de nucleótido único) que fueron determinados con VarScan. y por último a nivel de la anotación genética definiendo el Core y Pangenoma con OrthoMCL.

Figura 1. Pipeline utilizado para el ensamblado de los genomas.



Resultados

Dentro del rango de GC del resto de las especies del género que va de 46,5 a 69,7, *C. bovis* presenta un 73%. A pesar de esto, se logró el ensamblado *de novo* de las lecturas en 29 contigs para 019 cubriendo 2.566.775pb y en 50 para 001 con un total de 2.615.118 pb, con una mejora evidente respecto de la cepa de referencia (Tabla 1) cuyo genoma (tecnología 454) está ensamblado en 503 contigs.

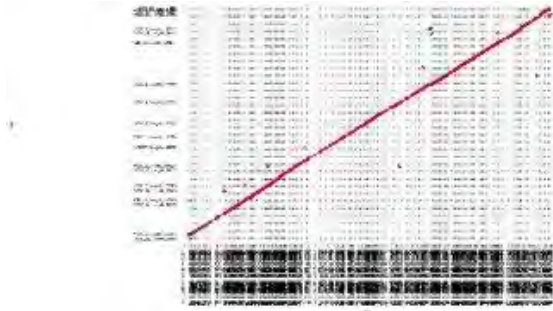
Tabla 1. Datos de los ensamblados genómicos logrados de 019 y 001 y de DSM20582 reportado previamente: Tecnología de secuenciación, número de contigs logrados, % de GC, L50: número de contigs que contienen el 50% de la secuencia genómica y tamaño total del genoma en pares de bases.

Cepa	019	001	DSM20582
Tecnología	Illumina	Illumina	454
N°Contigs	29	50	503
Contenido GC	72,8	73,0	72.6
L50	5	7	75
Tamaño	2.615.118	2.566.775	2.522.962

Los gráficos de Dot-Plot mostraron una buena concordancia con la referencia, con pocas

áreas repetitivas en los ensamblados logrados (Gráfico 1).

Gráfico 1. Gráfico Dot-Plot 019 vs DMS20582

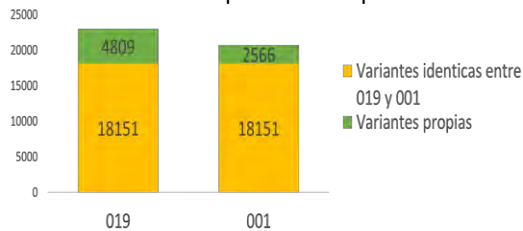


El cálculo del ANI comparando 019 y 001 con DMS 20582 fue de 98,5% en ambos casos lo que supera el 95% sugerido a utilizar para definición de especie.

Además, el ANI comparando los aislamientos de ovinos entre sí resultó en un 99,5%, porcentaje mayor al de cada cepa aislada de ovinos respecto a la referencia aislada de bovinos.

En cuanto al análisis de la variación genética se encontraron un total de 22960 SNPs entre 019 y DMS 20582 y 20717 entre 0019 y la referencia, de los cuales 18151 son compartidos en posición y variante entre los aislamientos ovinos (Gráfico 2). Esto implica que el 73% de los SNPs totales sumando los de ambos aislamientos con respecto a la referencia son idénticos, confirmando la mayor similitud de los aislamientos de ovinos entre sí, revelada por ANI.

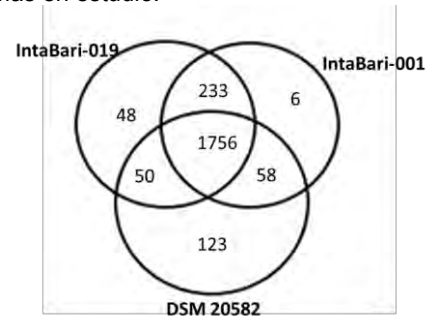
Gráfico 2. Número total de variantes de cada cepa aislada de ovinos respecto a la cepa de referencia.



Usando el pipeline de anotación automática de RAST fueron predichas 2196 y 2087 regiones codificantes para los genomas de aislamientos ovinos y 1987 para la referencia.

Se analizó la anotación de los tres genomas con OrthoMCL para definir el Core y el Pangenoma. Los resultados obtenidos se encuentran representados en el Diagrama de Venn (Figura 4) donde se observa que hay 1756 genes ortólogos compartidos entre los tres genomas de *C. bovis*, y que el Pangenoma consta de 2417 genes. Por su parte, los dos aislamientos de Lana Sisal comparten 233 ortólogos únicos.

Figura 4. Diagrama de Venn representando los genes ortólogos compartidos y únicos entre los tres genomas en estudio.



Discusión

El protocolo de ensamblado utilizado en los casos en estudio generó un menor número de contigs (N=29 y N=50) que los reportados para el genoma de la cepa de referencia (N=503), en un genoma que contiene un alto contenido de GC, lo que se refleja en un aumento de genes predichos. Si bien la clasificación previa a través de la secuencia del gen 16S ARNr indicaba la pertenencia de los aislamientos a la especie *C. bovis*, este estudio genómico logró establecer la existencia de variabilidad entre cepas aisladas de ovinos con Lana Sisal y la cepa de referencia bovina que causa mastitis en vacas. Este resultado se observa a diferentes niveles al comparar los tres genomas: en el ANI, en los SNPs encontrados y en los genes únicos, entre los genomas de aislamientos ovinos entre sí y de cada uno de ellos respecto a la referencia, coincidiendo todos en una mayor similitud entre los aislamientos provenientes de lesiones de Lana Sisal.

Conclusión

El hecho de que 019 y 001 sean genéticamente más similares entre sí que respecto al aislamiento de bovino, sugiere la asociación de variantes específicas de *C. bovis* de acuerdo al hospedador.

Bibliografía

- Brooks, B. & Barnum, D. A. 1984. Characterization of *Corynebacterium bovis*. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 48, 230–232.
- Robles, C. South America: Patagonia. In: *Diseases of sheep*, Ed. I. D. Aitken, Blackwell Publishing, UK, 2007:610.
- Schröder, J., Glaub, A., Schneider, J., Trost, E., & Tauch, A. 2012. Draft genome sequence of *Corynebacterium bovis* DSM 20582, which causes clinical mastitis in dairy cows. *Journal of Bacteriology*, 194(16), 4437–4437.
- Watts, J. L., Lowery, D. E., Teel, J. F., & Rossbach, S. 2000. Identification of *Corynebacterium bovis* and other coryneforms isolated from bovine mammary glands. *Journal of Dairy Science*, 83(10), 2373–2379.

SEROPREVALENCIA A HERPESVIRUS CAPRINO EN DISTINTAS REGIONES DE ARGENTINA

Maidana, S.^{1,4}; Fiorentino, A.⁵; Jastrzebski, P.⁴; Robles, C.⁶; Martínez, A.⁶; Bedotti, D.⁷; Vera, T.⁸ y Romera, S.A.^{1,2,3}

¹CONICET, ²CICVyA-INTA Castelar; ³Univ. del Salvador; ⁴Univ. de Morón; ⁵EAA-INTA Balcarce; ⁶EAA-INTA Bariloche; ⁷EAA-INTA Chamental

Introducción

La familia *Herpesviridae* incluye más de 100 herpesvirus distintos, muy difundidos en la naturaleza, capaces de inducir infecciones latentes que pueden reactivarse periódicamente en asociación con situaciones de estrés y/o inmunodeficiencia. En caprinos se ha aislado el *herpesvirus* caprino 1 (CpHV1) por primera vez en California, USA en 1970 y luego en Australia, N. Zelanda, Noruega, Grecia, Italia, países del Mediterráneo y también en España (Keuser 2004). Este virus está muy emparentado genéticamente y antigénicamente con BoHV1. Herpesvirus caprino 1 es un alfa herpesvirus (Davison y col, 2009) responsable de infecciones sistémicas letales en cabras de 1 a 2 semanas de edad (Van dor Lugt y col, 1993) y de infecciones subclínicas leves en cabras adultas (Tarigan y col, 1987). Las manifestaciones clínicas en cabras adultas involucran infecciones respiratorias o del tracto reproductivo dependiendo del sitio de entrada del virus), aunque CpHV1 infecta preferentemente la mucosa genital. La patogenia sigue los lineamientos generales de la infección por *herpesvirus*: son epiteletropos y tienen afinidad por la mucosa respiratoria y genital, donde se multiplican, generan las manifestaciones clínicas, graves en cabritos, frecuentemente subclínica en adultos y excretan gran cantidad de virus. Existen varias causas infecciosas de aborto en caprinos, pudiendo estar el herpesvirus involucrado. Los abortos se producen generalmente al final de la gestación, sin signos premonitorios respuesta inmune genera el cese de la excreción viral, pero los animales quedan como portadores latentes (Engels 2000).

El objetivo de este trabajo fue conocer la seroprevalencia a herpesvirus en cabras evaluando muestras de sueros caprinos de establecimientos de distintas regiones de nuestro país.

Materiales y Métodos

Los establecimientos evaluados en este estudio pertenecen a rebaños caprinos de las provincias de La Rioja, La Pampa, Buenos Aires y Rio Negro. Se evaluaron 226 sueros de un tambo caprino de la provincia de Buenos

Aires, 231 sueros de 16 establecimientos de los llanos de La Rioja, 114 sueros caprinos del Secano de la provincia de Rio Negro correspondientes a 28 establecimientos y 258 sueros caprinos de 10 establecimientos de La Pampa. Para evaluar la presencia de anticuerpos específicos contra CpHV1 se desarrolló un ELISA indirecto enfrentando los sueros a CpHV1 semipurificado y a BoHV1 para valorar inmunidad cruzada frente a este virus. El punto de corte establecido para este ELISA fue la media de sueros negativos más dos desvíos estandard.

Resultados

Se evaluaron sueros de cabras de la Rioja, La Pampa, Buenos Aires y Rio Negro.





Se evaluaron 829 sueros de cabras obteniéndose una seroprevalencia parcial de 48%.

Seroprevalencia 394/829

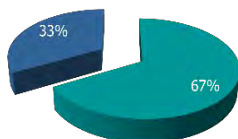
■ Sueros positivos ■ Sueros negativos



Los resultados muestran que en todas las regiones evaluadas hay animales seropositivos a herpescaprino. Se detectaron seroprevalencias parciales a CpHV1 de 37% en la región evaluada de la provincia de Río Negro, 44% en la región de Los Llanos de La Rioja, 67% en los sueros evaluados de la provincia de Buenos Aires y 38% en los establecimientos evaluados de la provincia de La Pampa.

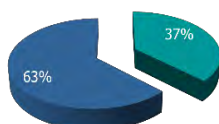
Seroprevalencia Bs As

■ Sueros positivos ■ Sueros negativos



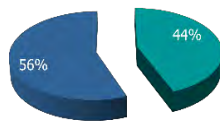
Seroprevalencia Bariloche

■ Sueros positivos ■ Sueros negativos



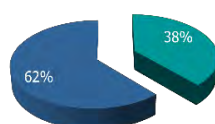
Seroprevalencia La Rioja

■ Sueros positivos ■ Sueros negativos



Seroprevalencia La Pampa

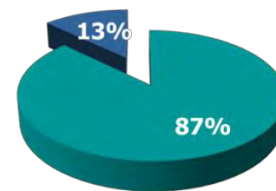
■ Sueros positivos ■ Sueros negativos



De 55 establecimientos muestreados en 48 (87.2%) se detectó serología positiva.

Establecimientos

■ Positivos ■ Negativos



Discusión

Si bien aún no se ha aislado el CpHV1 en nuestro país, en este estudio se demuestra en forma indirecta su circulación. De 55 establecimientos caprinos evaluados el 87% resultó con serología positiva a CpHV1. Nuestros resultados constituyen el primer reporte de seroprevalencia a CpHV1 en Argentina. El ELISA diseñado incluye BoHV1 en la placa permitiendo realizar un análisis específico sobre la positividad de los sueros.

En la siguiente etapa se continuará con el relevamiento serológico y se incluirá el muestreo de secreciones nasales, oculares y genitales para aislar el virus. Como no existen vacunas comerciales para herpesvirus caprino las medidas de control están enfocadas a optimizar las medidas de manejo a fin de disminuir el estrés sobre todo en la etapa reproductiva donde es frecuente la reactivación de animales latentemente infectados con CpHV1. Específicamente en este tipo de infección, que afecta negativamente los índices productivos de las majadas, los resultados que se obtengan aportarán en el desarrollo de estrategias de control sanitario para ser implementadas en las comunidades rurales, sobre todo en aquellos establecimientos con casos de abortos y mortalidad peri natal en las majadas.

Bibliografía

- Davison AJ, Eberle R, Ehiers B, Hayward GS, McGeoch DJ, *et al.* 2009. The order Herpesvirales. *Arch Virol.*2009;154:171-177.
- Engels M y col. *Le Point Veterinaires.* 2000. 31, 37.
- Keuser V, Espejo-Serrano J, Schynts F, Georgin JP, Thiry E. 2004. Isolation of caprine herpesvirus type 1 in Spain. *Vet Rec.*;154:395-399.
- Tarigan S, Webb RF, Kirkland D. 1987. Caprine herpesvirus from balanoposthitis. *Aust Vet J.*; 64:321.
- Van der Lugt JJ, Radles JR. Systemic herpesvirus infections in neonatal goats. 1993. *J South Afr Vet Assoc.* 64:169-171.

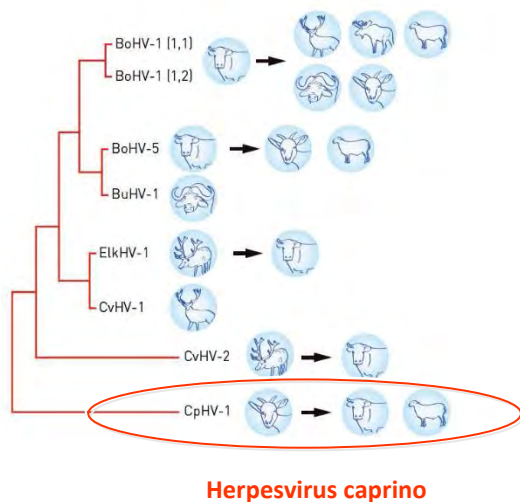
ESTUDIO DE SEROPREVALENCIA A HERPESVIRUS CAPRINO EN CABRAS DE DISTINTAS REGIONES DE ARGENTINA

Echague, H.³; Ferrecio, C.³; García, S.³; Maidana, S.^{1,2,4}; Doderó A.⁵; Neumann R.⁵; Cortez, S.⁵; Rodríguez, A.; Odeón M.; Delgado, M.G.⁶; Romera, S.^{1,2,3,4}

¹CONICET; ²CICVyA-INTA Castelar; ³Univ. del Salvador; ⁴Univ. de Morón; ⁵EAA-INTA Salta-IIACS; ⁶Lab. del campo – San Luis

Introducción

Herpesvirus caprino 1 es un alfaherpesvirus (Davison, 2009). Se lo aisló por primera vez en California, USA en 1970. Este virus está muy emparentado genéticamente y antigénicamente con BoHV1. El CpHV1 es responsable de infecciones sistémicas letales en cabras de 1 a 2 semanas de edad y de infecciones subclínicas leves en cabras adultas con manifestaciones clínicas que involucran infecciones respiratorias o del tracto reproductivo dependiendo del sitio de entrada del virus, aunque CpHV1 infecta preferentemente la mucosa genital.



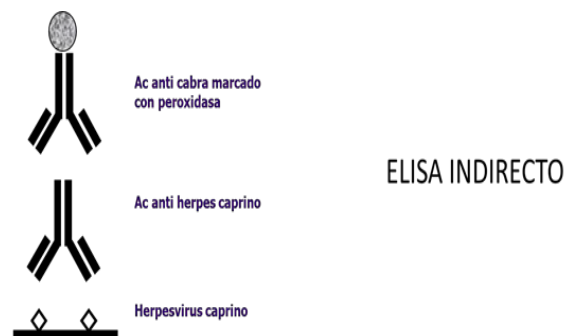
Los signos clínicos y la presencia de virus en muestras nasales, oculares, rectales y vaginales sugieren la transmisión venérea como principal vía de entrada de virus y la persistencia de la infección en los rebaños (Tempesta, 1999). La época de monta genera en machos, eliminación viral por semen y balanopostitis, por lo que se considera a la transmisión venérea como la vía de ingreso principal del virus.

Después de una infección primaria, los anticuerpos neutralizantes se detectan en el suero 1-2 semanas después de la infección; alcanzan un pico en la tercera o cuarta semana y disminuyen lentamente cerca de 6-10 meses después. Si los animales sufren estrés en esta etapa, CpHV1 puede reactivar y diseminarse, especialmente por vía genital (Tempesta, 2002).

CpHV1 se distribuye en todo el mundo donde existe producción de cabras, las grandes pérdidas económicas se producen en los países mediterráneos. Sin embargo las pérdidas económicas debido a infecciones por CpHV1 están probablemente subestimadas. El objetivo de este trabajo es estudiar la seroprevalencia a CpHV1 en cabras de la provincia de San Luis, Salta, y Catamarca.

Materiales y Métodos

Los establecimientos evaluados en este estudio pertenecen a rebaños caprinos de las provincias de Salta, San Luis, Catamarca y Jujuy se evaluaron un total de 1167 sueros. Para evaluar la presencia de anticuerpos específicos contra CpHV1 se utilizó un ELISA indirecto enfrentando los sueros a CpHV1 y BoHV1 semipurificado.



Los establecimientos de Salta evaluados en este estudio pertenecen a 40 rebaños caprinos para producción de carne del departamento Anta, subregión de Chaco Semiárido de la Ecorregión del Chaco Seco y un rebaño lechero del departamento Cerrillos, subregión Serrana de la Ecoregión del Chaco Seco. De San Luis se tomaron muestras en 29 localidades de 5 departamentos, estos 5 departamentos congregan el 90% de la población caprina de la provincia de San Luis. Se evaluaron 580 sueros muestreados en los distintos departamentos. En su mayoría los establecimientos muestreados corresponden a producción de carne solo 3 de ellos elaboran y venden subproductos lecheros.

De la provincia de Catamarca se evaluaron en total 92 sueros de un solo predio (tambo).

Resultados

Los resultados muestran que en todas las regiones evaluadas se detectaron animales seropositivos a herpes caprino. Se observaron seroprevalencias parciales a CpHV1:

de un total de 495 sueros muestreados en 40 predios de Salta resultaron positivos 216 sueros resultando en un 43.63% de seroprevalencia

De Catamarca de 32 sueros evaluados de un predio tambero, 3 sueros resultaron positivos arrojando una seroprevalencia a CpHV1 de 9.3%

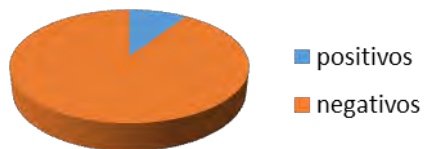
De la provincia de San Luis de 580 sueros evaluados principalmente de predios de producción de carne el 32% resultó positivo a CpHV1.

SALTA



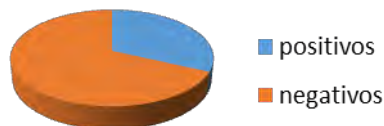
Seroprevalencia: 43,63%

CATAMARCA



Seroprevalencia: 9,3%

SAN LUIS



Seroprevalencia: 32%

Discusión

El CpHV1 tiene un fuerte impacto económico en los rebaños caprinos, ya que afecta la fertilidad de las hembras e induce abortos en el último tercio de la gestación (McCoy, 2007; Uzal, 2004, Grewat, 1986).

La permanencia de este virus en el rebaño es indeseable ya que se puede mantener en forma subclínica y reactivarse naturalmente durante la

época de reproducción debido a los cambios hormonales y situaciones de estrés a los que se somete a los animales de manera cíclica (Tarigan, 1987, Tempesta 1999). La posibilidad de abortos por esta causa se incrementa cuando los animales presentan inmunodepresión. La enfermedad producida por herpesvirus caprino plantea, una doble problemática: económica y sanitaria. Desde el punto de vista económico es un factor adverso para esta explotación, porque incide negativamente en la productividad de los caprinos y en la calidad higiénico-sanitaria de sus derivados. En la actualidad, uno de los tratamientos eficaces para el control de la enfermedad en caprinos consiste en la administración vaginal del antiviral aciclovir (Tempesta, 2002) sin embargo, el tratamiento resulta costoso y requiere de un manejo excesivo. Algunos tratamientos preventivos, como la vacunas, aún se encuentran en fase experimental, por tanto las medidas de control están enfocadas a optimizar las medidas de manejo a fin de disminuir el estrés sobre todo en la etapa reproductiva. La información aportada sobre seroprevalencia a CpHV1 de distintas regiones incidirá en el desarrollo de estrategias de control sanitario para ser implementadas en las comunidades rurales, sobre todo en aquellos establecimientos con casos de abortos y mortalidad peri natal en las majadas.

Bibliografía

- Davison AJ, Eberle R, Ehiers B, Hayward GS, McGeoch DJ, *et al.* The order Herpesvirales. Arch Virol. 2009; 154:171–177.
- Deryck HR, Van Kampen H *et al.* Abortion and ulcerative posthitis associated with caprine herpesvirus-1 infection in goats in California. J Vet Diagn Invest 2004; 16:478–484.
- Grewat AS, Wells R. Vulvovaginitis of goats due to caprine herpes virus. Aust Vet J 1986; 63:79–
- McCOY HM, Montgomery LD, Bratanich CA. Serologic and reproductive findings after a Herpesvirus-1 abortion storm in goats. J Am Vet Med Assoc 2007; 231: 1236–1239.
- Tarigan S, Webb RF, Kirkland D. Caprine herpes virus. Aust Vet J 1987; 64:321.
- Tempesta M, Camero M, Thiry J, Neyts J *et al.* Cidofovir is effective against caprine herpesvirus 1 infection in goats. Antivir Res 2007; 74: 138–141.
- Tempesta M, Greco G, Pratelli A, *et al.*, 2002, Reactivation of caprine herpesvirus 1 in experimentally infected goats. Vet Rec 4:116–117.
- Tempesta M, Buonovaglia C. Detection of caprine herpesvirus 1 in sacral ganglia of latently infected goats by PCR. J Clin Microbiol 1999; 37: 1598–1599.

SEROPREVALENCIA A HERPESVIRUS CAPRINO EN LA PROVINCIA DE SAN LUIS

Maidana, S.S.^{1,2,3}; Echague, H.R.⁴; Ferreccio, C.M.⁴; García, S.⁴; Rey, J.P.⁵; Spina, M.J.⁶; Delgado, M.G.⁶; Odeón, M.M.^{1,2,3}; Rodríguez, A.¹, y Romera, S.A.^{1,2,3,4}

¹Instituto de Virología – CICVyA -INTA; ²CONICET; ³Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad de Morón, ⁴ Universidad del Salvador, ⁵ Ministerio del campo – San Luis; ⁶Laboratorio del campo – San Luis

Introducción

El creciente interés en la producción de cabras en los últimos años demanda información sobre aspectos relacionados a la propagación, diagnóstico y control de la enfermedad. El herpesvirus caprino 1 (CpHV 1) se asocia con una variedad de afecciones de cabras, como infecciones gastrointestinales generalizadas en los animales jóvenes o subclínica en infecciones respiratorias y genitales en adultos. La infección con CpHV 1 es responsable de graves pérdidas económicas debidas a abortos y trastornos reproductivos. El diagnóstico serológico de la infección por CpHV1 se puede realizar utilizando el ensayo de seroneutralización y/o el ensayo ELISA.

La producción de cabras es una actividad económica importante para pequeños productores, principalmente en áreas geográficas no aptas para producciones de mayor rentabilidad, ascendiendo la población total en Argentina a aproximadamente 4,720,674 animales. Los sistemas de cría de cabra pueden tener diferentes propósitos, producción de carne, fibra, piel cuero, leche y queso (Smith & Sherman 2009). El interés surgido en la producción caprina (lechera en particular) durante los últimos años despierta una demanda creciente de información sobre aspectos relativos a la propagación, diagnóstico y control de distintas enfermedades, fuertemente incorporada al acervo cultural regional.

El diagnóstico serológico de la infección por CpHV1 se puede realizar utilizando la técnica de seroneutralización (SN) y por ensayo de ELISA

De acuerdo a los estudios serológicos la infección por CpHV1 se distribuye en todo el mundo donde existe producción de cabras, las grandes pérdidas económicas debidas principalmente por abortos y trastornos reproductivos se producen en los países mediterráneos (Keuser *et al.*, 2004; Thiry *et al.*, 2006). Sin embargo las pérdidas económicas debido a infecciones por CpHV1 están probablemente subestimadas.

Recientemente en Argentina se ha reportado serología positiva a CpHV1 en distintas regiones (S. Maidana *et al.*, 2014). En el presente trabajo se estudió la seroprevalencia

a CpVH1 en cabras de la provincia de San Luis.

Materiales y Métodos

El estudio se realizó sobre sueros caprinos tomados entre los años 2012 y 2015 como parte del Plan Provincial de Control y Erradicación de Brucelosis Caprina. Los muestreos fueron realizados por técnicos del Ministerio del campo–San Luis. Se efectuó el diagnóstico serológico de CpHV1. Siendo el total de cabras en San Luis de aproximadamente 107.120- SENASA, dic.2014, se analizaron muestras de 5 departamentos que concentran el 83% de la población caprina de la Provincia. Se evaluaron 580 sueros muestreados en los distintos departamentos. Se tomaron muestras en 29 establecimientos provenientes de distintas localidades pertenecientes a 5 departamentos. En su mayoría los establecimientos muestreados corresponden a producción de carne, solo 5 de ellos elaboran artesanalmente y venden subproductos lecheros. Si bien, los problemas reproductivos son frecuentes en esta especie, solo 3 de las majadas incluidas en el estudio, reportaron abortos. De los establecimientos bajo estudio, 2 de ellos corresponden a escuelas agrotécnicas y también fueron incluidos los caprinos del Módulo Genético provincial. Se seleccionaron aleatoriamente 20 sueros caprinos de cada establecimiento. Los departamentos evaluados fueron Juan Martín de Pueyrredón, San Martín, Belgrano, Chacabuco y Coronel Pringles. Para evaluar la presencia de anticuerpos específicos contra CpHV1 se utilizó el ELISA indirecto (S. Maidana *et al.*, 2014) enfrentando los sueros de cabra a CpHV1 semipurificado y a BoHV1 para valorar inmunidad cruzada frente al herpes bovino. El punto de corte establecido para este ELISA fue la media de sueros negativos más dos desvíos estandard.

Resultados

En la Tabla se muestran los establecimientos positivos y los porcentajes de animales positivos de la Provincia de San Luis correspondientes al periodo entre 2012 y 2015. Los resultados muestran que en 4 de 5 departamentos evaluados se detectaron

animales seropositivos a herpes caprino. Solo en el departamento de Coronel Pringles no se detectaron animales positivos, en los restantes se observaron seroprevalencias parciales entre 27 y 43% resultando, con las muestras evaluadas hasta el momento, un porcentaje promedio relativo total para la Provincia del 32%.

Serología CpHV1



Departamento	Total de sueros muestreados	Establecimientos positivos/total establecimientos	% animales positivos
Ayacucho	179	9/9	43
J.M Pueyrredón	60	3/3	41
San Martín	80	4/4	37.5
Belgrano	201	9/10	27
Coronel Pringles	60	0/3	0
TOTAL	580	25/29	32

Conclusiones

El ganado caprino constituye un bien de subsistencia clave para muchas familias rurales. Así como en otras provincias de nuestro país la producción caprina es parte de la economía regional de San Luis ocupando el tercer lugar en la cadena de producción por número de cabezas y el segundo por el número de productores que la desarrollan.

Son varios los trabajos realizados con el fin de identificar problemas sanitarios en majadas caprinas de diferentes regiones del país, sin embargo, es escasa la información sanitaria disponible sobre infecciones por herpesvirus caprino.

Si bien aún no se ha aislado el CpHV1 en nuestro país, los resultados del diagnóstico serológico de CpHV1 demuestran en forma indirecta su circulación en la provincia de San Luis. Los sueros analizados corresponden a los 5 departamentos que congregan el 83% de la población caprina de la provincia de San Luis y detectando un 32% de animales seropositivos a CpHV1 en concordancia con hallazgos de porcentajes de serología similar en otras provincias de nuestro país (Maidana y col, 2014). Nuestros resultados constituyen el primer reporte de seroprevalencia a CpHV1 en la provincia de San Luis.

La enfermedad producida por herpesvirus caprino plantea, una doble problemática: económica y sanitaria. Desde el punto de vista económico es un factor adverso para esta explotación, porque incide negativamente en la productividad de los caprinos y en la calidad higiénico-sanitaria de sus derivados. Como no existen vacunas comerciales para herpesvirus caprino las medidas de control están enfocadas a optimizar las medidas de manejo a fin de disminuir el estrés sobre todo en la etapa reproductiva donde es frecuente la reactivación de animales latentemente infectados con CpHV1. Específicamente en este tipo de infección, que afecta negativamente los índices productivos de las majadas, la información sobre seroprevalencia a CpHV1 de distintas regiones aportará en el desarrollo de estrategias de control sanitario para ser implementadas en las comunidades rurales, sobre todo en aquellos establecimientos con casos de abortos y mortalidad peri natal en las majadas.

Bibliografía

- Keuser, V. *et al.*, 2004. Isolation of caprine herpesvirus type 1 in Spain. The Veterinary record.
- Maidana, S. *et al.*, 2014. Seroprevalencia a CpHV1 en distintas regiones de Argentina. In XX AAVLD.
- Smith, M. & Sherman, D., 2009. Goat Medicine, Thiry, J. *et al.*, 2006. Ruminant alphaherpesviruses related to bovine herpesvirus 1. Veterinary Research.

DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE *Corynebacterium pseudotuberculosis* EN OVINOS DE LA PATAGONIA

Marcellino, R.¹; Mignaqui, A.² y Pappalardo, J.¹

¹Grupo de Salud Animal INTA Bariloche; ²CONICET

Introducción

La Linfadenitis Caseosa (LAC) es una enfermedad infectocontagiosa de curso crónico que afecta principalmente a ovinos y caprinos adultos. El agente etiológico, *Corynebacterium pseudotuberculosis*, genera una patología que se caracteriza por la formación de abscesos caseosos en ganglios linfáticos superficiales y profundos, y en órganos como pulmón, hígado y riñón (Foto 1). Según el tiempo que lleva la infección, el material caseoso puede variar de consistencia (líquida, pastosa, seca, dura), aspecto (grumoso, homogéneo, laminar) y color (blanco-crema, verde). Pueden llegar a encontrarse casos de material caseoso con calcificaciones o totalmente calcificado. Si bien es posible aislar la bacteria a partir de lesiones con diferentes tiempos de maduración, la ubicación y cantidad de bacterias viables presentes en los abscesos crónicos puede ser bajo y en ocasiones hasta ser estériles. En la Patagonia es común el hallazgo de animales afectados con las consecuentes pérdidas económicas que conlleva la presencia de LAC debido al decomiso de las canales afectadas y a la disminución de la producción.

Foto 1. Animal afectado y detalle de ganglio con material caseoso en su interior.



El diagnóstico de rutina en caso de sospecha de LAC se basa en el aislamiento e identificación del agente etiológico mediante técnicas bacteriológicas a partir del material caseoso de ganglios u órganos afectados. Sin embargo, esta metodología lleva tiempo, es costosa, las cepas presentan diferencias en los resultados y en algunas ocasiones pueden obtenerse cultivos de otros microorganismos piogénicos. También se debe hacer el diagnóstico diferencial con lesiones que macroscópicamente pueden llegar a confundirse con LAC como es el caso de los quistes hidatídicos. En la bibliografía se han descrito técnicas moleculares que detectan el ADN de la bacteria, como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). En algunos

casos se ha trabajado a partir de los aislamientos obtenidos de los ganglios u órganos afectados o directamente con el material caseoso pero con metodologías de extracción de ADN largas, que utilizan reactivos tóxicos y costosos.

El objetivo de este trabajo fue poner a punto una PCR utilizando una técnica de extracción de ADN económica y sencilla para determinar la presencia de *C. pseudotuberculosis* directamente a partir del material caseoso y comparar los resultados obtenidos con los de las técnicas bacteriológicas utilizadas de rutina.

Materiales y Métodos

Se recolectaron 40 muestras de ganglios y órganos afectados de 32 ovinos Merino adultos provenientes de una estancia de Río Negro. Los abscesos se abrieron y se frotó un hisopo por la cara interna de los mismos que luego se descargó en placas de agar sangre. Éstas se incubaron y se observaron a las 48 hs. Las colonias que resultaron macroscópicamente compatibles con *C. pseudotuberculosis* (pequeñas, circulares, secas, de superficie opaca, color blanco-crema, con una estrecha zona de hemólisis) y que al microscopio óptico resultaron bacilos cortos, Gram positivos y dispuestos en empalizada se repicaron para realizar las pruebas bioquímicas correspondientes para identificar a *C. pseudotuberculosis* (Foto 2).

Foto 2. Colonias de *C. pseudotuberculosis* en placa y al microscopio.



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

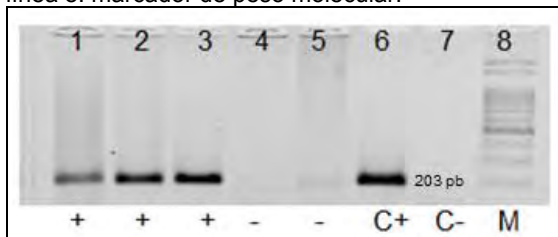
En el caso de abscesos que contenían líquido o resultaron ser ganglios aumentados de tamaño, se tomaron 100 µl o se realizó un lavado con solución fisiológica estéril respectivamente y se procedió con la bacteriología y la extracción de ADN como se describió anteriormente.

Las reacciones de PCR fueron realizadas según lo descrito por otros autores con modificaciones menores. Los productos de PCR que tuvieron un peso molecular de 203 pb (pares de bases) se consideraron como resultado positivo para *C. pseudotuberculosis*. Para evaluar la concordancia entre las dos técnicas se calculó el valor Kappa.

Resultados

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

Figura 1. Resultados obtenidos por PCR. Líneas 1-5: muestras, línea 6: control +, línea 7: control -, línea 8: marcador de peso molecular.



Los resultados al comparar la bacteriología tradicional y la PCR se muestran en la Tabla 1. Se obtuvo un acuerdo positivo (ambas técnicas positivas) del 94.12% y un acuerdo negativo (ambas pruebas negativas) del 75%. El valor de Kappa obtenido fue 0.83, resultando las dos técnicas con una buena concordancia.

Ninguna muestra arrojó un resultado negativo a bacteriología y positivo por PCR. Dos muestras resultaron positivas a bacteriología pero negativas por PCR. En estos dos casos se observó en las placas un importante desarrollo de microorganismos contaminantes y pocas colonias de *C. pseudotuberculosis* (<10). Para evaluar la presencia de inhibidores se realizó la PCR con diluciones de templado, también se realizó la PCR con mayor cantidad de templado

pero no fue posible detectar la banda específica.

Tabla 1. Resultados de bacteriología y PCR de ganglios y órganos con sospecha de LAC

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

Discusión

Los resultados obtenidos permiten concluir que en el caso de sospecha de LAC, la PCR descrita es confiable y se podría utilizar como una herramienta alternativa al cultivo bacteriológico (técnica considerada *gold standard*). A diferencia de la bacteriología, la PCR permite obtener un resultado en 24 hs y al trabajar directamente con el material biológico se elimina el tiempo y materiales que requieren el primo aislamiento del agente. El hecho de contar con una metodología de extracción de ADN de pocos pasos y que no requiere el uso de solventes tóxicos, hace que la técnica sea rápida, económica, segura y que no requiera de equipamiento especializado.

Además, al trabajar sobre el ADN de la bacteria la PCR es independiente de su viabilidad, por lo tanto nos permite realizar un diagnóstico confiable en muestras que han sido congeladas o conservadas por varios días, siendo esto algo frecuente en nuestro extenso territorio patagónico.

Bibliografía

- Guimarães AS, Carmo FB, Pauletti RB, Seyffert N, Ribeiro D, *et al.* 2011. Caseous Lymphadenitis: Epidemiology, diagnosis, and control. *IIOAB J* vol 2(2): 33-43.
- Marcellino R, Santana J. 2016. Caracterización del material caseoso en lesiones de LAC y su correlación con el aislamiento de *C. pseudotuberculosis* en ovinos de Santa Cruz. XXI Reunión Científico Técnica de la AAVLD. Jujuy.
- Santana J. 2014. Relevamiento de Quistes Hidatídicos en Ovinos. Río Gallegos. Zafra 2013/14. Informe Técnico.
- Pacheco LGG, Pena RR, Castro TLP, Dorella FA, Bahía RC, *et al.* 2007. Multiplex PCR assay for identification of *Corynebacterium pseudotuberculosis* from pure cultures and for rapid detection of this pathogen in clinical samples *J Med Microbiol* 56:480-486.
- Pavan ME, Robles C, Cairó FM, Marcellino R, Pettinari MJ. 2012. Identification of *Corynebacterium pseudotuberculosis* from sheep by PCR-restriction analysis using the RNA polymerase β -subunit gene (*rpoB*) *Res Vet Sci.* 92(2):202-6

Clostridium perfringens EN PEQUEÑOS RUMIANTES DE LA PATAGONIA

Mignaqui, A.C.^{1,2}; Marcellino, R.B.²; Pappalardo, J.S.²; Robles, C.A.²
¹Conicet; ²Grupo de Salud Animal, INTA Bariloche.

Introducción

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

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

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la presencia de *C. perfringens* en muestras de pequeños rumiantes sanos de la Patagonia utilizando técnicas bacteriológicas y de biología molecular.

Materiales y Métodos

Se tomaron hisopados rectales de corderos (n=15), cabritos (n=10) y ovejas (n=15) clínicamente sanos pertenecientes al Campo Experimental de INTA EEA Bariloche. En el caso de los corderos y las ovejas se tomaron muestras seriadas a distintos tiempos, desde el nacimiento hasta el destete. Las muestras fueron conservadas en glicerina al 50% V/V a temperatura ambiente hasta su procesamiento. Las muestras se sembraron en caldo Tarozzi y se incubaron a 37°C por 24 h en jarras de anaerobiosis con una atmósfera de 95% H₂ y 5% CO₂. Se utilizaron 100 μ l de caldo Tarozzi para sembrar placas de agar sangre con neomicina (100 μ g/mL). Las placas se incubaron en anaerobiosis nuevamente por 24 h. Las colonias con doble halo de hemólisis compatibles con *C. perfringens* se identificaron con la tinción de Gram y las pruebas bioquímicas: leci-tinasa, CAMP y tolerancia al O₂ (Figura 1).

Por otro lado, se realizó la extracción de ADN mezclando 20 μ L de caldo Tarozzi con 150 μ L de la resina Chelex, se incubó 20 min a 65°C, 8 min a 100°C, se centrifugó 2 min a 10000 g y se recuperó el sobrenadante. El ADN extraído se utilizó como templado en una PCR múltiple utilizando cebadores previamente descriptos para los siguientes genes cpa, cpb, etx, iA, cpe y cpb² (Figura 2). Se utilizaron las siguientes

condiciones que permitieron detectar las seis bandas en el mismo tubo de reacción: 0.4 μ M de cpa, 0.36 μ M de cpb, 0.5 μ M de etx, iA y cpb², 0.6 μ M de cpe, 10 mM dNTPs, 2mM MgCl₂, 2 \times PCR buffer Taq Pegasus (PB-L, Argentina), 1.25 U DNA Taq Pegasus, 1 μ L de ADN y agua hasta completar 25 μ L. Las condiciones de ciclado fueron las siguientes: 25 ciclos a 95°C por 1 min, 53°C por 1 min 72°C por 1 min y un paso adicional de 10 min a 72°C.

Figura 1. Tinción de Gram de colonias de *C. perfringens* y doble halo de hemólisis característico de la bacteria en agar sangre.

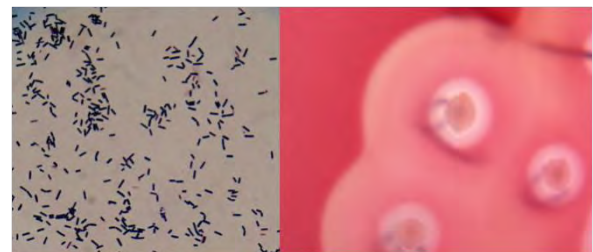
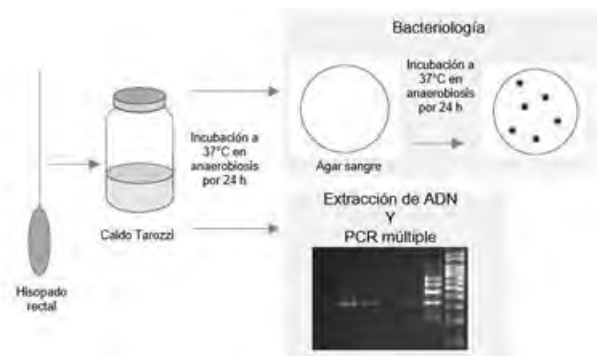


Figura 2. Esquema del procesamiento de las muestras.



Resultados

Como puede observarse en el Gráfico 1, la presencia de *C. perfringens* en muestras obtenidas a partir de corderos sanos fue muy alta, siendo el 100% de las muestras positivas a los 3 días de vida⁴. Este porcentaje fue disminuyendo en los sucesivos muestreos hasta alcanza un valor alrededor del 40% en corderos de más de 4 meses.

Las ovejas madres de los corderos también se muestrearon a los 2, 4 y 6 meses de vida de los corderos obteniéndose porcentajes de *C. perfringens* de 67%, 43% y 50% por

bacteriología y 73%, 43% y 50% por PCR, respectivamente.

En todas las muestras analizadas el *C. perfringens* tipo A fue el más frecuentemente aislado, pero es interesante destacar que también el tipo C y tipo D con los genes de la enterotoxina y la toxina beta 2 fueron identificados en corderos sanos.

Gráfico 1. Presencia de *C. perfringens* en muestras de corderos sanos. d: días, m: meses. En la parte superior de las barras se indica el tipo de *C. perfringens* aislado.

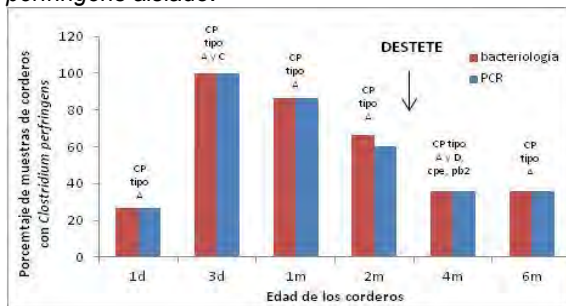
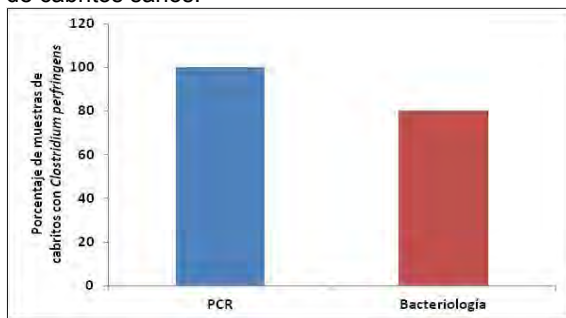


Gráfico 2. Presencia de *C. perfringens* en muestras de cabritos sanos.



En el caso de las muestras obtenidas de cabritos sanos, las mismas también muestras fueron tomadas a los pocos días de nacer y un 100% de las muestras indicaron la presencia de *C. perfringens* por PCR y un 80% por bacteriología. En este caso sólo se aisló *C. perfringens* tipo A.

Discusión

Los resultados de este estudio demuestran la alta prevalencia de *C. perfringens* en pequeños rumiantes de la Patagonia. Esta prevalencia es especialmente alta en corderos y cabritos recién nacidos y remarca el riesgo constante al que están expuestos los animales. Más aún si se tiene en cuenta que no solo se aislaron cepas de *C. perfringens* tipo A sino también cepas de *C. perfringens* tipo C y D (cpe+, cpb2+). La bacteria fue aislada en un 100% de las muestras de animales al poco tiempo de nacer. Esto remarca la importancia de vacunar a las madres antes de la parición para que ocurra la transferencia de inmunoglobulinas por el calostro y de esta forma los animales recién nacidos cuenten con inmunidad pasiva.

En este sentido es importante destacar, que los resultados del estudio permitieron evidenciar la presencia de los genes de las toxinas beta 2 y enterotoxina en cepas de *C. perfringens* por primera vez en la Patagonia. Para garantizar una buena protección de los animales, estas toxinas deberían ser tenidas en cuenta a la hora de realizar el diseño de vacunas.

A nivel metodológico, los resultados destacan la utilidad de la PCR múltiple a la hora de evaluar la presencia de *C. perfringens* en muestras biológicas ya que la técnica permite no solo evaluar la presencia de *C. perfringens* por medio de la detección del gen que codifica para la toxina alfa (cpa) sino también obtener información sobre genes que codifican para otras toxinas. A nivel diagnóstico representa un avance ya que es posible informar el resultado a las 24 h de recibida la muestra utilizando un método rápido y simple, que a su vez aporta información sobre los genes de las toxinas presentes en la muestra.

Sin embargo, los resultados obtenidos remarcan también la necesidad de contar con herramientas que midan toxinas a nivel proteico o de ARNm para poder darle significancia diagnóstica a los aislamientos, ya que como se concluye de los resultados de este estudio y de la bibliografía, el mero aislamiento de la bacteria, incluso de cepas que pueden producir la toxina épsilon ya que portan el gen de la misma (etx) no implica enfermedad.

Conclusión

Los resultados de este estudio demuestran que la presencia de *C. perfringens* en pequeños rumiantes sanos de la Patagonia es muy alta, incluso desde muy temprana edad. Por lo tanto, el riesgo de enfermedad por *C. perfringens* es elevado lo que remarca la necesidad de realizar planes de vacunación como forma de prevención y avanzar en el desarrollo de mejores vacunas.

Bibliografía

- Uzal FA, Songer JG. 2008. Diagnosis of *Clostridium Perfringens* Intestinal Infections in Sheep and Goats. J Vet Diagnostic Investig. 20(3):253-265.
- M. Sterne, I. Batty (1975). Pathogenic Clostridia, First, Butterworth & Co, London Boston.
- Meer RR, Songer JG. 1997. Multiplex polymerase chain reaction assay for genotyping *Clostridium perfringens*. Am J Vet Res. 58(7):702-705.
- Mignaqui AC, Marcellino RB, Ronco T, Pappalardo JS, Nonnemann B, Pedersen K, Robles C. 2017. Isolation and molecular characterization of *Clostridium perfringens* from healthy Merino lambs In Patagonia region, Argentina. Anaerobe 43, 35-38.

DESCRIPCIÓN CLÍNICA DE CASOS COMPATIBLES CON ENTEROTOXEMIA CAPRINA DEL SUDOESTE DEL CHACO

Smeriglio, Aldo
INTA Las Breñas

Introducción

La enterotoxemia caprina es una enfermedad infecciosa producida por toxinas de *Clostridium perfringens* que generalmente queda sin diagnóstico definitivo, debido a lo complejo que este resulta. Afecta a animales de buen estado corporal. Es poco frecuente observar los signos clínicos debido a que esta es una enfermedad aguda o sobre aguda, siendo lo más frecuente encontrar los animales muertos en el campo. Cuando se alcanzan a observar, los signos más llamativos consisten en hipertermia, diarrea, convulsiones, incoordinación, parálisis y opistótonos. En la necropsia del animal puede observarse líquido en las cavidades abdominal, torácica y pericárdica. Las paredes del intestino se encuentran engrosadas y con edema y el contenido intestinal es por lo general de color verde oscuro o rojizo, con presencia de fibrina (Bedotti D. y Rossanigo C. 2011).

En la región SO de la provincia del Chaco se han detectado numerosas consultas técnicas sobre “tormentas de muertes” de cabritos lactantes con estas manifestaciones clínicas. Los productores caprinos de la zona describen la signología alegando que sin previo aviso los cabritos de entre 1 y 2 meses emiten un balido y comienzan con una fase de estiramiento del cuello, a veces acompañado de convulsiones y muerte sin dar tiempo a comenzar un tratamiento. En otros casos encuentran el animal muerto al otro día en dicha posición. En todos los casos comienza por las crías de mayor peso y de mayor valor comercial, lo que genera usualmente mayor frustración en el criador. En los casos que se pudo realizar la necropsia se pudo observar una gran hiperemia en los tejidos y órganos intestinales, haciendo gran contraste con la piel y mucosas con gran palidez. El contenido intestinal con una coloración roja con una tonalidad oscura y opaca (Foto 1).

Se han reportado casos de pérdidas de hasta el 70% de los cabritos paridos con recurrencias parto tras parto, representando en estas economías de autoconsumo y pequeños volúmenes de venta (45 cabras adultas por productor como promedio, con índices de prolificidad de 1,6 cabritos por vientre) un gran perjuicio que va en desmedro de la profundización en la adopción de nuevas tecnologías y mejoramiento de los rodeos.

En general se asocia a la enterotoxemia con cambios bruscos en la dieta, usualmente a

dietas ricas en carbohidratos de rápida fermentación (Uzal, 2003).

Foto 1. Aspecto del intestino de un animal afectado.



También con períodos prolongados de tiempo en que los cabritos dejan de mamar y posteriormente ingestas abundantes en cada toma. Ninguna de las dos hipótesis planteadas concuerda con la anamnesis realizada en la zona.

Al existir dificultad para la remisión de muestras por la gran distancia existente con los centros de análisis de esta enfermedad en particular, siendo el criterio más aceptado como diagnóstico definitivo de enterotoxemia de *C. perfringens* en cabras y ovejas la detección de sus toxinas en contenido intestinal (Uzal, 2003), se decidió recurrir al estudio de los casos por sintomatología y se decidió observar la respuesta a los tratamientos profilácticos recomendados. Estos se realizan a base de vacunas polivalentes e inactivadas frente a los tipos A, B, C y D, aplicadas a cabras preñadas con revacunación en cabritos y desinfección de las instalaciones para disminuir la incidencia de la enfermedad en los rodeos.

Materiales y Métodos

Se trabajó con 25 familias dedicadas a la producción caprina que poseen un promedio de 45 madres por establecimiento en una superficie promedio de 50 hectáreas, cada uno dentro de un sistema de explotación mixta con cría de cerdos y pollos como actividades secundarias. Se realizaron 4 capacitaciones en sanidad animal abordando las problemáticas de mayor demanda, dentro de las cuales surgió casi con unanimidad la inquietud por una

patología con sintomatología compatible con enterotoxemia.

Mediante un relevamiento inicial de antecedentes por productor, se relevó que el 68% de las familias intervinientes tuvo problemas con este tipo de enfermedad en la última camada de cabritos y el 92% tuvo experiencias previas con la misma en sus establecimientos.

Con cada familia se programaron estrategias de prevención mediante la utilización de vacunas polivalentes contra agentes clostridiales (para prevención de mancha, gangrena gaseosa y enterotoxemias bovinas) y desinfección de corrales para la siguiente fecha de pariciones. Se vacunaron cabras preñadas de entre 30-45 días pre parto con una dosis de 3 cm vía subcutánea. Posteriormente al nacimiento se revacunaron los cabritos nacidos a los 10 días también con 3 cm por la misma vía. Paralelamente previo al parto se procedió a la desinfección de los corrales mediante, en primer lugar barrido y eliminación de la materia fecal y posteriormente, en algunos casos utilización de Oxido de Calcio (cal apagada) al 5%, disolviendo 500 gramos en 10 litros de agua y en otros 1 litro de creolina comercial al 10% disuelta en 9 litros de agua. En el primer caso se utilizó el encalado mediante baldes y recipientes. En el caso de la creolina se aplicó por aspersion utilizando mochilas de fumigación. En ambos casos se aplicaron los desinfectantes tanto en el suelo como en las paredes de las instalaciones, dejando luego los corrales vacíos por al menos medio día (de la Sota, 2004).

Posteriormente a la faena de todos los cabritos de la parición, realizada alrededor de los 2 meses de vida, se visitó a los productores para verificar la eficacia de los procedimientos preventivos realizados y consultar sobre la percepción de los resultados obtenidos. Esto se volcó sobre una planilla de datos para su análisis y demostración de resultados en una posterior reunión.

Resultados

Se observó que de la totalidad de productores que siguieron las recomendaciones solamente 3 establecimientos continuaron con muertes con la signología descrita, pero con la salvedad de que la cantidad de animales afectados fue significativamente menor. Se estableció posteriormente en una reunión con los participantes, el impacto directo de las medidas adoptadas sobre la salud de las majadas y los rendimientos productivos.

Discusión y Conclusiones

Se concluye que las medidas profilácticas contribuyeron a la disminución de la incidencia de la enfermedad en los establecimientos de los productores que siguieron las recomendaciones. Mediante el acercamiento de información y la adopción de medidas de control simples se pudieron elevar los ingresos económicos.

Se pudo observar en otras experiencias que la persistencia de agente patógeno en los establecimientos perdura a través de los años, presentándose nuevamente la enfermedad en los casos en que se abandonan las prácticas profilácticas.

La poca demanda de la vacuna por parte de los productores a través del tiempo llevó a que las veterinarias locales dejaran de comercializarlos, lo que agravó el problema en cuestión. Se espera la reactivación del uso de estas medidas profilácticas para generar mayor facilidad de acceso a estos productos.

La experiencia realizada en este grupo de productores caprinos tuvo un impacto positivo en la conciencia y difusión de los resultados, puesto que se incrementaron las consultas sobre los productos y dosis a utilizar. A su vez se demandaron capacitaciones en distintas agrupaciones para profundizar en el tema de sanidad en el ganado caprino.

Se recabó información sobre la utilización de vacunas compuestas por anacultivos de *Pasteurella multocida* como tratamientos paliativos en majadas problema con relativo éxito. Se plantean hacia el futuro la realización de experiencias para verificar su acción e indagar con más precisión en el diagnóstico diferencial en caso de que se presentase una patología o la otra. Queda pendiente la profundización de la investigación y el perfeccionamiento de la metodología de muestreo y análisis de los datos para poder evaluar con mayor eficacia y detalle la incidencia de la enterotoxemia en el ganado caprino en el SO chaqueño.

Bibliografía

- Bedotti D. y Rossanigo C. 2011. Manual de reconocimiento de enfermedades del caprino. Diagnóstico de las enfermedades más comunes en la región centro oeste del país. Pp 23.
- Uzal F.A. 2003. Diagnosis of *Clostridium perfringens* intestinal infections in sheep and goats. California Animal Health and Food Safety Laboratory System School of Veterinary Medicine, Univ. of California. Pp 136;141.
- de la Sota M. 2004. Manual de Procedimientos de Desinfección. SENASA. Pp 13;22.

OSTEOMENINGOMIELITIS LUMBO-SACRO-COCCÍGEA EN CORDERA POST CAUDECTOMÍA

Rodríguez, A.¹; Cesa, A.²; Victoria, D.²; Schmidt, D.²; Gual, I.³; Olmos, L.³; Llada, I.³; Migliavacca, J.³;
Moreira, A.³; *Cantón, G.³

¹INTA EEA Cuenca del Salado. ²Veterinario, actividad privada; ³INTA EEA Balcarce

Introducción

Dentro de las prácticas tradicionales en la producción ovina, el descole (caudectomía) a edad temprana es utilizado en todas aquellas razas que presentan su cola cubierta por lana, vinculado a aspectos higiénico-sanitarias de forma de evitar la formación de cascarria.

Una inadecuada caudectomía puede predisponer a cuadros de prolapso rectal, infecciones medulares y abscesos epidurales, entre otras patologías (Foto 1).

Foto 1. Infección en periné post descole.



El objetivo de este trabajo es describir un caso de osteomeningomielitis en una cordera de 6 meses de edad en consecuencia de una caudectomía inadecuada.

Materiales y Métodos

El problema ocurrió en un establecimiento de producción mixta de 420 ha del partido de Rauch, Buenos Aires. La majada, compuesta por 154 ovinos $\frac{3}{4}$ Dorper $\frac{1}{4}$ Corriedale de dientes de leche a boca llena, se encontraban en un potrero de 15 ha, con una cobertura vegetal del 50-60 % y baja disponibilidad de especies forrajeras, tanto nativas como naturalizadas. El 18/01/2016 se les realizó el descole (caudectomía) a 20 corderas de 6 a 7 meses de edad, mediante un cuchillo.

Una semana después, 5 corderas fueron tratadas con Cipermetrina en forma local para control de miasis. Ocho días más tarde, una de las corderas tratadas se vio clínicamente afectada.

Se realizó un examen clínico completo y se tomaron muestras de sangre con y sin anticoagulante (EDTA). Se realizó el

hemograma a través de con un contador hematológico Mindray BC5150; se determinó la actividad de la enzima creatin-quinasa sérica (CK) a través de un autoanalizador de química clínica Metrolab CM250 en cinética a 37°C con rediluciones automáticas; y la concentración de Se en suero a través de la técnica de espectrofotometría de absorción atómica.

Inmediatamente se efectuó una terapia a base de Oxitetaciclina, Complejo de vitamina B, Dexametasona y una solución de aporte nutricional que contenía Vitamina A y E, Metionina, P, K, Cu, Zn y Se. Tras 26 días sin observarse mejorías y con un pronóstico desfavorable, se decidió realizar la eutanasia y necropsia de la cordera afectada.

Durante la necropsia se tomaron muestras de líquido cefalorraquídeo (LCR) y médula espinal para cultivo bacteriológico y muestras de tejidos fijadas en una solución de formalina tamponada al 10% para su examen histopatológico de rutina y tinciones especiales (Gram).

Resultados

La cordera afectada presentaba ataxia y paresia en los miembros posteriores (posición de "perro sentado"). (Foto 2).

Foto 2. Posición de "perro sentado" e incontinencia urinaria en una de las corderas afectadas.



Al examen clínico se observó falta de sensibilidad superficial, hiperreflexia en el reflejo patelar, ausencia del reflejo perineal, incontinencia urinaria e hiperestesia con automutilación en la región glútea. La temperatura rectal fue de 40,8°C.

Los resultados del leucograma, la actividad sérica de CK y la concentración sérica de Se se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Resultados de hemograma, CK y Se en suero de cordera afectada.

Determinación	Valor	Valores de referencia
Leucocitos	17900	4000-12000/mm ³
Neutrófilos segmentados	84	10-50%
Linfocitos	13	40-75%
CK	2378	7,7-101U/l
Se	<15	>50µg/l

Durante la necropsia se observó extensa malacia de la médula espinal de apariencia amarillo-verdosa, meningitis desde la 2° vértebra lumbar hasta la primera coccígea afectando también el cuerpo vertebral de la última vértebra lumbar y el canal sacro (Foto 3).

Foto 3. Osteomeningomielitis en región lumbo-sacra.



El examen histológico confirmó una mielitis necrotizante generalizada severa crónica y una meningitis severa proliferativa no supurativa.

En la tinción de Gram del tejido analizado histológicamente se observaron múltiples agrupaciones intralesionales de bacilos y cocobacilos Gram-positivos en médula espinal y meninges.

El cultivo bacteriológico del LCR resultó negativo, mientras que en médula espinal se aislaron bacilos cortos Gram-positivos con morfología y características beta hemolíticas compatibles con *Trueperella pyogenes*.

La presencia de *Proteus* sp., con diseminación en napa por toda la placa, no permitió identificar con precisión esta bacteria.

Discusión

Los estudios realizados permitieron confirmar un cuadro de osteomeningomielitis en la región lumbo-sacro-coccígea de manera similar a lo descrito por otros autores. Siendo *T. pyogenes* y *Staphylococcus* spp. los agentes infecciosos más frecuentemente aislados. Aunque en la histología y análisis bacteriológico hubo evidencias de una infección por *T. pyogenes*, en este caso esta bacteria no pudo ser aislada. En este episodio distintos factores pudieron haber predisuesto este cuadro infeccioso. La realización de la caudectomía con animales de más de 3 meses de edad lo que conlleva una mayor tamaño de las vértebras y una mayor sección de los vasos sanguíneos que irrigan la cola aumentando la pérdida de sangre y el hecho de haberse realizado esta práctica durante el verano, pudieron favorecer la presentación de miasis, dificultando la cicatrización. Una inadecuada oferta forrajera, una deficiencia de Se y la baja condición corporal observada en la cordera pudieron tener un efecto negativo en la respuesta inmunitaria, complicando el cuadro.

Conclusiones

Deben tomarse los recaudos mínimos de higiene durante el descole (caudectomía) a edad temprana ya que una maniobra inadecuada puede predisponer a este tipo de episodios con impacto productivo relevante en estos sistemas.

Bibliografía

- Ceballos, D.; Villa, M.; Tracaman, J. 2011. Rev. Arg Prod. Anim. 31: 175-176.
- Crilly, J.; Rzechorzek, N.; Scott, P. 2015. Diagnosing limb paresis and paralysis in sheep. In Practice 37:490-507.
- Scott, P. 2002. Diseases of sheep. 3 ed. Edinburgh: Blackwell. 228-239.

RELEVAMIENTO SANITARIO EN REBAÑOS OVINOS Y CAPRINOS DE LA REGIÓN SUR DE LA PROVINCIA DE RÍO NEGRO

Robles, C.¹; Martínez, A.¹; Romera, A.²; Brihuega, B.³; Chodilef, M.¹; Vega, C.²; Gos, M.L.⁴

¹Grupo de Salud Animal, INTA Bariloche; ²Instituto de Virología, INTA Castelar; ³Instituto de Patobiología, INTA Castelar; ⁴Laboratorio de Inmunoparasitología, FCV-UNLP

Introducción

La región sur de la provincia de Río Negro se caracteriza a nivel productivo por la alternancia de medianos y grandes establecimientos ovejeros, con sectores de pequeños productores, agrupados ya sea en parajes o comunidades, muchos de ellos asentados sobre tierras fiscales. Estos pequeños productores son criadores de ovinos y caprinos, generalmente en sistemas extensivos, donde la alimentación de los animales depende exclusivamente de los pastizales naturales. Son sectores que no poseen buenas instalaciones para el manejo y cuidado del ganado, con poca o nula incorporación de tecnología. La realidad sanitaria del ganado de este sector es poco conocida, ya que en general no tienen acceso a los servicios veterinarios y por ende dependen básicamente de la llegada de los servicios oficiales. El objetivo de este trabajo fue realizar una actividad de relevamiento y diagnóstico de los principales problemas sanitarios presentes en hatos y majadas de la región.

Materiales y Métodos

A partir de las actividades de extensión y transferencia que lleva adelante el INTA, se seleccionaron 28 establecimientos en los parajes Villa Llanquín, Pichi Leufu, Blancura centro, Pilquiniyeu del Limay, Monte austral, Mamuel Choique, Meseta de Somoncura, Mencué y Anecón Grande ubicados en la región sur de la Provincia de Río Negro.

En cada establecimiento se trabajó con machos y hembras de ovinos y caprinos según disponibilidad.

En total se muestrearon 355 ovinos, siendo 208 hembras y 147 machos y 153 caprinos, correspondiendo 120 a hembras y 33 a machos.

A cada animal se lo revisó clínicamente y se le tomó una muestra de sangre y de materia fecal. De las muestras de sangre se obtuvo suero que fue fraccionado en tubos eppendorf y congelados a -20°C hasta su procesamiento. Se realizó serología para *Brucella ovis*, *Brucella melitensis*, *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, *Herpes virus* y *Leptospira*. En muestras de materia fecal se buscó la presencia de *Coronavirus* y *Rotavirus* mediante pruebas de TR-Pcr y Elisa.

Resultados

A la revisión clínica de los animales se detectaron las siguientes enfermedades: Queratoconjuntivitis, Ectima contagioso, Epididimitis, Criptorquidia, Melofagosis, Pediculosis y Lana Sisal.

Los resultados de brucelosis ovina por *Brucella ovis* y de brucelosis caprina por *Brucella melitensis* se pueden observar en la Tabla 1.

Tabla 1. Resultados de Brucelosis.

	<i>Brucella ovis</i>		
	total	Pos (+)	%
Ovejas	208	10	4.81
Carneros	147	14	9.52
	<i>Brucella melitensis</i>		
	total	+	%
Cabras	94	0	0
Castrotes	29	0	0

Los resultados de Toxoplasmosis y Neosporosis en ovinos y caprinos pueden observarse en las Tablas 2 y 3

Tabla 2. Resultados de Toxoplasmosis.

	Toxoplasma		
	total	+	%
Ovejas	167	21	12.57
Carneros	47	6	12.77
Cabras	94	49	52.13
Castrotes	29	14	48.28

Tabla 3. Resultados de Neosporosis.

	Neospora		
	total	+	%
Ovejas	167	3	1.8
Carneros	47	1	2.13
Cabras	94	0	0
Castrotes	29	0	0

En las Tablas 4 y 5 se presentan los resultados de Leptospirosis en ovinos y caprinos

Tabla 4. Resultados de leptospirosis en ovinos.

Leptospirosis en ovinos		
Serovar	Tot	%
Ballum	23	12.78
Pomona	21	11.67
Ball + Pom	18	10

Tabla 5. Resultados de leptospirosis en caprinos.

Leptospirosis en caprinos		
Serovar	Tot	%
Ballum	11	6.11
Pomona	10	5.56
Ball + Pom	9	5
Griptomifosa	1	0.56

Para el caso de herpes, se analizaron solamente los sueros caprinos, resultando un 39.47% de sueros positivo a *Herpes virus caprino tipo 1*.

En el caso de *Rotavirus* y *Coronavirus*, todas las muestras, tanto de ovinos como de caprinos, resultaron negativas a la presencia de virus.

Discusión

Las prevalencias para *B. ovis* concuerdan con los valores históricos para la región (Robles y col, 2012), que marcan un 70% de establecimientos infectados con una prevalencia animal promedio del 6% pero con presencia de establecimientos con más del 30% de carneros positivos. Esto marca la necesidad de establecer planes de control de la brucelosis ovina, mediante el control anual y el descarte de los carneros positivos a la serología medida mediante el test de ELISA, en razón que la Gel difusión a demostrado no ser de mayor utilidad en los planes de control. La ausencia de reactores a *B. melitensis* suman a la idea de que Patagonia estaría libre de esta última enfermedad, ya que hasta el presente nunca se ha logrado aislar *B. melitensis* de casos de abortos en cabras o de casos de orquioepididimitis en castrones y la mayoría de los relevamientos serológicos realizados en caprinos, siempre han arrojado resultados negativos.

Como tema emergente, se resalta la alta prevalencia de toxoplasmosis encontrada en los caprinos lo que por un lado podría estar relacionado con los problemas de abortos que denuncian los productores y que por otro lado genera una fuerte preocupación, en términos de salud pública. En un estudio previo pero en otra región de la misma provincia se había encontrado un 20% de caprinos positivos a *Toxoplasma* (Martínez y col, 2013). La

preocupación actual ante estos resultados es la falta de métodos disponibles para el control de esta enfermedad que puedan ser aplicables en estos sistemas de producción. La contracara de esta enfermedad en esta especie fue la ausencia de animales positivos a *Neospora*, que si se expresó en ovinos, aunque en bajos niveles.

Para el caso de enfermedades virales, fue llamativa la alta prevalencia encontrada para *Herpes virus caprino tipo 1*, que al igual que la toxoplasmosis podría estar involucrada en la presentación de abortos, tan común en esta especie. En el caso de Leptospirosis, se detectó la presencia de anticuerpos contra 3 serotipos aunque en títulos bajos, siendo la prevalencia en ovinos prácticamente el doble de la hallada en caprinos tanto en *L. Ballum* como *L. Pomona*. Reportes previos solo marcaban la presencia de *L. Pomona* (Martínez y col, 2013). No queda claro si la circulación de estas leptospiras están causando algún daño en las majadas y hatos de la zona en estudio, por lo que habría que estar atentos ante problemas de animales abortados o con hematuria, para intentar el aislamiento.

El presente trabajo demuestra que tanto majadas como hatos en manos de pequeños productores tienen problemas sanitarios al igual de lo que ocurre en otro tipo de establecimientos más organizados, con las desventajas en este caso, que a menos que intervenga el estado, estos productores no tienen escasa capacidad económica para contratar los servicios de un veterinario que pueda ayudarlos en la definición y establecimiento de un plan sanitario. Esta información debiera servir de base para el desarrollo de planes estatales para la prevención y control de las enfermedades del ganado de este sector productivo y en los casos de enfermedades zoonóticas trabajar en conjunto con las autoridades provinciales de Salud Pública.

Agradecimientos: a las Agencias de Extensión Rural del INTA de Los Menucos, Ingeniero Jacobacci y Bariloche y a Matías Aduriz, Silvina Maidana, Pedro Jastrzebski, Marina Bok y Viviana Parreño por las colaboraciones en los trabajos de campo y de laboratorio.

Referencias

- Robles, C.A.; Martínez, A.; Chodilef, M. 2012. Brucelosis ovina en Patagonia: Analisis de 15 años de diagnostico en el laboratorio del INTA Bariloche. XIX Reunión Científico-Técnica de la AAVLD, 7-9 Noviembre de 2012, Buenos Aires, Argentina.
- Martínez, A.; Bincáz, J.; Brihuega, B.; Sheridan, M.; Mozgovej, M.; Parreño, V.; Gos, M.; Robles, C. 2013. Relevamiento sanitario en caprinos en una zona de peri-valle de la provincia de Río Negro. Veterinaria Argentina, Vol XXX, N° 303, 15 pág.

RELEVAMIENTO SANITARIO EN CAPRINOS EN EL PERI-VALLE DE LA PROVINCIA DE RÍO NEGRO, ARGENTINA

Martínez A.¹; Bincz J.³; Brihuega B.²; Sheridan M.³; Mozgovoj M.²; Parreño V.²; Gos L.⁴; Robles C.¹
¹Grupo de Salud Animal-INTA Bariloche; ²AER Cipolletti INTA; ³Inst de Patobiología. INTA Castelar; ⁴FCV-UNLP

Introducción

La producción caprina extensiva en Argentina se caracteriza por ser de subsistencia y estar mayormente en manos de pequeños productores o crianceros. El principal producto es la carne y en forma secundaria la leche, que utilizan para su propia alimentación y venta del remanente (Rossanigo 2003). Debido a consultas realizadas por productores de la zona de Cinco Saltos, provincia de Río Negro, que observaban en sus hatos reiterados casos de aborto, se realizó el presente trabajo a fin de generar información sobre la situación sanitaria de los hatos de la zona.

Materiales y Métodos

Se trabajó con seis productores los cuales fueron encuestados para conocer sus conocimientos, actitudes y prácticas (Estudio CAP) respecto a las enfermedades y manejo sanitario que realizan con sus animales.

En estos seis predios se revisaron clínicamente un total de 60 cabras, consistente en la determinación de la edad mediante la observación de la erupción dentaria, estimación de la condición corporal (CC), observación de signos de diarrea, trastornos oculares, presencia de ectima contagioso, inspección de parásitos externos y observación de la glándula mamaria.

De los animales revisados clínicamente se extrajo materia fecal y sangre para posteriores análisis con el fin de determinar la presencia de enfermedades parasitarias e infecciosas. Los análisis coproparasitológicos consistieron en determinar la cantidad de huevos por gramo (hpg) de nematodos gastrointestinales y presencia de ooquistes de coccidios utilizando el método de McMaster modificado y determinación de presencia de huevos de *Fasciola hepatica* por el método de sedimentación. Los análisis serológicos se realizaron para determinar la presencia de anticuerpos contra cepas lisas de *Brucella sp*, *Leptospira sp* y *Toxoplasma gondii*, mediante las pruebas de BPA, SAT y 2-ME; test de aglutinación microscópica e inmunofluorescencia indirecta, respectivamente. Para la detección de anticuerpos contra Virus de Artritis Encefalitis Caprina (vAEC), Virus de Parainfluenza-3 Bovino (vPI3), Virus Respiratorio Sincicial

Bovino (vRSB), Herpesvirus Bovino 1 (vBoHV-1) y Pestivirus Bovino (vDVB), se utilizaron pruebas diagnósticas como inmunodifusión en gel de agar, inhibición de la hemaglutinación y seroneutralización, respectivamente.

Resultados

Del estudio CAP se desprende que los productores poseen entre 70 y 300 cabras y en general las instalaciones dedicadas a la producción caprina son precarias. Cuatro de los 6 productores poseen bovinos, ovinos o porcinos como producciones secundarias. Las dimensiones de los predios varían entre 2 y 56 hectáreas, y el pastoreo de las cabras se realiza generalmente sobre campos fiscales sin delimitación perimetral. En lo concerniente con la salud de los animales, los productores conocen solo un 42% (rango 26%-56%) de las enfermedades con posible presencia en la zona. Ninguno de los productores encuestados aplica vacunas ni realiza revisiones clínicas periódicas a los animales, desparasitan en forma sintomática contra parásitos internos y únicamente un productor aplica antiparasitario contra ectoparásitos.

En las siguientes tablas se resumen los hallazgos clínicos, parasitológicos y serológicos.

Tabla 1. Cantidad de animales según predio con los signos clínicos observados en la revisión.

Predio	Nº cabras analizadas	Diarrea	Lesiones oculares	Ectima Contagioso	Ectoparásitos	Mastitis
A	6	1	1	0	4	0
B	11	0	0	5	6	0
C	6	0	0	1	3	1
D	10	0	0	0	3	0
E	12	0	1	0	12	0
F	15	0	0	1	1	1
Total	60	1	2	7	29	2
%	100%	1,7%	3,3%	11,3%	48,3%	3,3%

Tabla 2. Resultados coproparasitológicos.

Predio	Nº cabras analizadas	Promedio hpg (*)	Rango hpg	Coccidios (%)	<i>Fasciola hepatica</i> (%)
A	6	5	0-30	66,7	17
B	11	6	0-30	88,8	0
C	6	30	0-60	100	25
D	10	0	-	40	70
E	12	2,5	0-30	66,7	8
F	15	22	0-90	60	7
Total	60	9,8	0-90	65,4	19,6

Tabla 3. Animales reaccionantes a las diferentes agentes infecciosos.

Predio	Nº cabras analizadas	<i>Brucella</i>	<i>Leptospira</i>	<i>T.gondii</i>	vAEC	vRSB	vBoHV-1	vPI-3	vDVB
A	6	0	0	1	0	6	1	6	0
B	11	0	1	3	0	11	1	8	0
C	6	1	1	2	0	6	2	6	0
D	10	0	1	4	0	9	2	10	0
E	12	0	0	1	0	9	1	8	0
F	15	1	4	1	0	12	1	8	0
Total	60	2	7	12	0	53	8	47	0
%	100%	3,3%	11,7%	20,0%	0,0%	88,3%	13,3%	78,3%	0,0%

Discusión

El estudio CAP reflejó que se trabajó con pequeños productores o crianceros, los cuales carecen de un territorio delimitado. Sus animales realizan el pastoreo sobre terrenos fiscales en donde deben convivir hatos de diferentes productores sujetos a distintas realidades nutricionales, reproductivas y sanitarias, que limitan la eficiencia en medidas de manejo, principalmente del tipo sanitario, que pueda realizar cualquier productor en forma aislada.

Es de destacar el alto porcentaje de infestación por piojos masticadores, exceptuando el establecimiento F que fue el único productor que manifestó realizar desparasitaciones contra estos ectoparásitos, lo cual demostraría la eficacia de la práctica en estos sistemas.

En los análisis coproparasitológicos se identificaron huevos de *Nematodirus* y *Ostertagia spp*, siendo éstos los géneros de nematodos más frecuentemente hallados en pequeños rumiantes en Patagonia. Sin embargo, llama la atención los bajos conteos en todos los establecimientos analizados. Esto puede deberse a las prácticas de desparasitación que los productores manifestaron realizar, y que éstas sean eficientes; o bien a que exista un bajo nivel de infestación, haciendo innecesaria la dosificación, lo que acarrea un mayor costo y, no menos importante, posibilita la generación de resistencia de los parásitos ante los fármacos utilizados.

Es llamativa la alta difusión de *Fasciola hepatica* encontrada en este estudio, siendo el endoparásito con mayor impacto desde el punto de vista sanitario y productivo. Esto se correlaciona con el estudio CAP, donde 4 de los 6 productores dijeron saber que tenían el parásito en el hato y que han tenido animales clínicamente afectados e incluso muertes con signología compatibles.

El caso de los animales reaccionantes a *Brucella sp* (3,3%), demuestra la necesidad de realizar relevamientos más frecuentes y de mayor cobertura regional a fin de detectar el status real de esta enfermedad en Patagonia.

Es probable que tanto la cercanía geográfica que tiene la zona estudiada con provincias en donde la brucelosis está presente, como el fluido intercambio de animales entre productores minifundistas, estén relacionados con este hallazgo.

La detección de serología positiva a *Leptospira spp* (11,3%), marca la presencia del agente en el medio y el posible rol de esta bacteria en los casos de aborto.

Se determinó que el 20% de las hembras reaccionaron para *T. gondii*, resultando ser un porcentaje mayor que en trabajos realizados en La Pampa (2,6%) y en un hato de San Luis (15%); y menor que en hatos de la provincia de Buenos Aires (86%) y de San Luis (37%). Futuros trabajos deberán efectuarse para determinar la relación entre la presencia de animales reaccionantes con la ocurrencia de abortos.

El presente trabajo demuestra la presencia de animales reaccionantes a una gran variedad de agentes infecciosos y parasitarios. Si bien en muchos de los casos no se conoce la implicancia que generan estos agentes al no haberse detectado los síntomas o lesiones de dichas enfermedades, es importante haber determinado su presencia para desarrollar futuros trabajos que permitan cuantificar, en términos sanitarios y productivos, el impacto de estos agentes en la producción caprina. Así mismo permitirá iniciar actividades de vigilancia y de alerta entre productores y veterinarios de la región. Para ello es importante que los laboratorios de diagnóstico regionales incorporen las técnicas diagnósticas específicas para cada enfermedad.

Bibliografía

- Rossanigo C. 2003. Actualización sobre las parasitosis del ganado caprino. Veterinaria Argentina, Vol. XX.
- Robles C y col 2008. Relevamiento sanitario e implementación de un plan para la prevención y control de enfermedades en bovinos de productores rurales minifundistas comunitarios de la provincia de Neuquén, Argentina. ISBN: 978-987-521-327-2.

EVALUACIÓN SANITARIA DE VICUÑAS (*Vicugna vicugna*) MANEJADAS POR COMUNIDADES ABORÍGENES DEL DEPARTAMENTO YAVI, JUJUY

Romero, S.R.¹; Cafrune, M.M.²; Rocha, L.³; Arregui, M.³ y Romera, A.³

¹INTA PAF NOA, Jujuy; ²INTA IIACS, Tucumán; INTA Salta ³Inst. Virología, CICVYA, Hurlingham

Introducción

Desde el año 2012, comunidades aborígenes del Departamento de Yavi en la provincia de Jujuy desarrollan planes de conservación y manejo de vicuña que habitan en su territorio. Estos planes incluyen la captura, esquila y posterior liberación de estos animales. La interacción de los microorganismos con animales hospederos, en este caso la vicuña, dentro del ecosistema proviene de un camino de co evolución y de alguna manera concluye en cierto equilibrio. Este equilibrio puede verse roto al intervenir un factor inmunosupresor como por ejemplo el estrés, favoreciendo de esta manera la aparición de enfermedades (Gimpel y Bonacic, 2006). El manejo de las vicuñas por el hombre es promotor de estrés como así también la ruptura del equilibrio nutricional (sobrecarga o competencia). El conocimiento del estado sanitario de la población silvestre es fundamental al momento de plantear un manejo racional de estos recursos. Se han reportado un amplio espectro de enfermedades infecciosas y parasitarias en camélidos sudamericanos (CS) tanto silvestres como domésticos (Aguirre y Cafrune, 2007; Parreño y Marcoppido, 2006). Algunas de ellas se corresponde a patógenos especie específicos para CS y en otros casos enfermedades propias del ganado doméstico.

Materiales y Métodos

En 2015 durante la ejecución de los planes de manejo en el último trimestre del año se capturaron en cuatro sitios diferentes 513 vicuñas. En esa oportunidad se tomaron muestras de aproximadamente el 14 % de los animales para estudios sanitarios. Se extrajeron en esa oportunidad muestras de heces desde el recto para análisis coproparasitológicos y de sangre a partir de punción yugular. Se examinó la superficie corporal de los animales buscando lesiones dérmicas y/o presencia de ectoparásitos. Para la manipulación de los animales se utilizaron capuchas en la cabeza para disminuir estímulos visuales de acuerdo a pautas de bienestar animal. Las técnicas parasitológicas utilizadas fueron: 1- Técnica de McMaster modificada para recuento de huevos de nematodos tricostrongílicos (HpG) y de ooquistes de coccidios (OpG) por gramos de heces. 2- Técnica de flotación con solución densa para diagnóstico de otras especies de

nematodos y coccidios. 3- Técnica de sedimentación y tinción con Azul de Metileno para diagnóstico de *Fasciola hepatica*. 4- Observación a lupa, tras ser previamente aclarados con lactofenol. Los ejemplares de ectoparásitos recolectados se identificaron mediante claves de reconocimiento morfológico.

De las muestras de sangre extraída se obtuvo suero que se analizaron con técnicas indirectas de diagnóstico para algunas enfermedades infecciosas. Se investigó la presencia de anticuerpos (Ac) contra Herpesvirus Bovino 1 (BoHV-1) agente etiológico de la Rinotraqueitis Infecciosa bovina (IBR) y contra el virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB) por seroneutralización, además de la presencia de Ac contra el virus de Parainfluenza Bovina tipo 3 (PI.3) por Inhibición de la hemoaglutinación (IHA). Por medio de la técnica en placa con antígeno buferado (BPA) se analizó la presencia de Ac contra *Brucella abortus*.

Foto 1. Extracción de sangre en vicuñas manejadas en silvestría.



Resultados

El 100% de las muestras de suero resultaron seronegativas para Ac contra BoHV-1 y VDVB. Con respecto a PI.3, el 84% de las muestras presentaron Ac con variaciones en títulos de las respuestas. Dentro de una misma población se observaron fluctuaciones en ellos e incluso algunos resultaron negativos. En relación a Brucelosis el 100% de los sueros resultaron negativos. Los estudios parasitológicos resultaron negativos para *Fasciola hepatica*. Se registró la presencia de huevos de *Lamanema chavezii*, *Trichuris* sp., *Capillaria* sp. y *Nematodirus* sp., con prevalencias de 6%, 21%, 3% y 3%, respectivamente. A su vez el 25% de las muestras mostró una baja cantidad

de huevos de tricostronglidos. La prevalencia de ooquistes de coccidios fue de un 33% que incluyen cargas bajas a moderadas.

La coprología reportó además una prevalencia de 6% de cestodes. Los ectoparásitos encontrados fueron garrapatas y piojos. La especie de garrapata identificada en sus formas adultas (macho y hembra) corresponde a *Amblyomma parvitarsum*. Los adultos de *A parvitarsum* se consideran parásitos específicos de CS, fijándose con frecuencia en la región perineal (Aguirre y Cafrune, 2007). Se determinó la presencia de las 3 especies de piojos del género *Microthoracius*: *M. praelongiceps*, *M. mazzai* y *M. minor*. La especificidad de los piojos picadores según las referencias bibliográficas no es estricta ya que han sido halladas en las diferentes especies de CS (Aguirre y Cafrune, 2007). Todos los resultados encontrados servirán como una línea de base sobre el estado inicial de las poblaciones de vicuñas manejadas en este territorio.

Foto 2. Ejemplar de vicuña (*Vicugna vicugna*) y un ejemplar de llama (*Lama glama*) cohabitando en un ambiente puneño. Gentileza Ing.Agr. J Sardina Aragón.



Discusión

Las experiencias pilotos realizadas en Jujuy tienen particularidades que las diferencian entre sí y a su vez con las realizadas en Catamarca y en otros países vicuñeros. La elaboración de los planes de conservación y manejo comunitarios demanda a los productores contar con información e instrumentos técnicos adecuados al contexto local y regional.

El conocimiento del estatus sanitario de la población silvestre como las del ganado doméstico de un área compartida, es fundamental al momento de plantear un manejo racional de estos recursos. Las enfermedades actúan en la fauna silvestre como un factor de selección natural (Parreño y Marcoppido, 2006, Beldomenico, 2006). Un factor de estrés como la captura y esquila de las vicuñas en silvestría o la competencia nutricional con el ganado

doméstico provoca mayor susceptibilidad a contraer enfermedades. Los animales silvestres pueden a su vez, ser reservorios o huéspedes silvestres de agentes patógenos peligrosos para el ganado y/o el hombre.

Para complementar la información obtenida en este trabajo está previsto realizar pruebas diagnósticas respecto a otros posibles agentes patógenos encontrados en camélidos sudamericanos y estudios sanitarios similares en las especies domésticas con las que cohabitan las vicuñas. Monitoreo periódico de las poblaciones de vicuña y del ganado doméstico de un mismo territorio permitirían detectar problemas epidemiológicos y tomar las medidas de precaución y control adecuadas.

Agradecimientos

A las comunidades aborígenes del Departamento de Yavi y al equipo técnico de la Secretaría de Agricultura Familiar y la Secretaría de Biodiversidad de Jujuy. Al colega M.V Cosme Flores (Programa ProTenencia)

Foto 3. Vicuñas capturadas en corral pre manejo.



Bibliografía

- Aguirre D H y Cafrune M M. 2007. Parasitosis de los camélidos sudamericanos en Enfermedades Parasitarias de los ovinos y otros rumiantes menores en el cono sur de América. Suarez, V H; Olaechea FV; Romero JR; Rossanigo CE Publicación Técnica N°70. Ediciones INTA.
- Beldomenico P. 2006. Medicina y animales silvestres: desafío para las ciencias veterinarias en el siglo XXI. Revista FAVE - Ciencias Veterinarias 5 (1-2).
- Gimpel, J y Bonacic, C. 2006. Cap. 11: 147-164. 208 pp.
- Parreño, V. y Marcoppido, G., 2006. Estudio de la sanidad en camélidos: Avances a partir de muestras de camélidos silvestres. En: Investigación, conservación y manejo de vicuñas. Vilá, B. (ed). Cap. 11: 147-164. Proyecto MACS-Argentina. Buenos Aires. 208 pp.

BOTIQUÍN COMUNITARIO EN PARAJE PAMPA DEL ZORRO, CHACO

Smeriglio, Aldo
INTA Las Breñas

Introducción

Los productores del paraje Pampa del Zorro, paraje dependiente del municipio de la ciudad de Las Breñas, provincia del Chaco, observaron que sus animales sufrían diversas afecciones, como parasitosis gastrointestinales, patologías podales, entre otras; pero el acceso a los medicamentos y a la asistencia veterinaria resultaba engorroso y a destiempo, debido principalmente a la distancia a los centros urbanos (50 km). Esto sumado a la falta de información, llevaba constantemente a los ganaderos locales a la mala utilización de medicamentos y/o a la no aplicación de medidas sanitarias básicas, con las consecuentes repercusiones. Se planteó la necesidad de mejorar las herramientas de acceso a una mayor y mejor sanidad en las majadas.

Por otra parte debido a que en su mayoría son explotaciones familiares de producción para el autoconsumo en las que la mano de obra son las mujeres y niños de la casa, la aplicación de medidas profilácticas en los rodeos no eran llevadas a cabo, entre otras causas por resultar dificultosa la tarea para solamente una o dos personas. Estas en muchos casos eran personas de una edad superior a los 55 años, lo que incrementaba en días el tiempo necesario para llevar a cabo estas labores. Estas particularidades contribuían notoriamente a la falta de, no sólo la aplicación correcta de cada uno de los medicamentos, sino también a la correcta revisión y seguimiento de cada enfermedad presentada. Todo este contexto derivaba en una creciente desmotivación de los productores caprinos, que veían a sus animales con baja producción de leche, pelajes quebradizos, bajas ganancias de peso e incluso muertes por infecciones secundarias a lesiones podales y por falta de vacunaciones profilácticas en casos de enterotoxemias clínicas.

El objetivo del trabajo es evaluar los beneficios que genera el trabajo comunitario en sanidad animal, mediante el uso de un botiquín sanitario.

Materiales y Métodos

En primera instancia se realizó un diagnóstico sobre las enfermedades y las sintomatologías que aparecían con más frecuencia. Posteriormente se realizaron capacitaciones en sanidad caprina, en donde se trabajó sobre las

patologías identificadas brindando información principalmente sobre cómo prevenirlas y llegado el caso de aparecer, cuáles son las mejores maneras de identificarlas y cuáles son los medicamentos pertinentes para tratarlas. Luego se procedió a la compra de medicamentos e insumos, los cuales están bajo la administración de los mismos productores. Estos incluían antiparasitarios orales, inyectables y pour on; antibióticos de amplio espectro; curabicheras; antiinflamatorios; vacunas contra clostridiales, entre otros.

Se conformó un equipo de trabajo dispuesto a la aplicación de medidas sanitarias en sus majadas y en las de sus vecinos. En principio se programaron desparasitaciones con productos de aplicación oral, principalmente para el combate de las gastroenteritis verminosas causantes de bajas productivas en la zona, en dosis de 1 cm³ cada 10 kg de peso; suplementación con polivitamínicos por vía parenteral para estimular la recuperación nutricional de los animales muy parasitados, en dosis de 3 cm³ por animal; y recortes de pezuñas para corregir crecimientos excesivos que son predisponentes a patologías podales por acúmulo de barro y materia fecal entre la parte córnea y la suela de las patas de los animales.

Foto 1. Aplicación comunitaria de medidas sanitarias.



La metodología de trabajo fue grupal en un sistema rotativo de actividades, donde se formaron grupos de 10 productores que comenzaron las actividades juntos desde la primera hasta la última majada, logrando así que las cabras de Pampa del Zorro en su totalidad estuviesen saneadas. Cada productor abonó para la conformación de un fondo rotativo, el equivalente a las dosis utilizadas para futuras recompras de insumos.

Foto 2. Aplicación comunitaria de medidas sanitarias.



Se conformó de esta manera un botiquín de insumos veterinarios de uso cotidiano, quedando a cargo de un delegado de la agrupación de productores, encargado en primer lugar del resguardo de los medicamentos y en segunda instancia de su fraccionamiento y cobro a los vecinos que solicitasen la dosis necesaria para una patología en particular. Para completar el ciclo rotativo, se continuaron comprando nuevos medicamentos con los fondos generados. Todas las compras quedaron registradas en tablas como la siguiente.

Fecha	Producto	Cm ³	\$/cm ³	\$Total	Firma

Resultados

Un total de 35 productores se sumaron a la propuesta de trabajo comunitario, invirtiendo \$198,30 c/u, lo que permitió sanear sus rodeos reduciendo significativamente los costos, ya que si compraban los mismos productos individualmente, tendrían un costo de \$1.239 c/u. A su vez la compra por dosis permite eficientizar el uso de los productos, ya que se evitan vencimientos y aplicaciones incorrectas. El trabajo realizado de manera grupal permitió disminuir el tiempo, realizando las actividades de saneamiento en 8 a 10 establecimientos diarios.

Se utilizaron los productos de manera correcta para cada caso y en las dosis recomendadas por el fabricante.

Esto representó en el período de un año un ahorro de \$229,27 en antibióticos; \$416,05 en antiparasitarios; \$70,17 en curabicheras; \$141,99 en polivitamínicos; \$143,45 en vacunas y \$39,87 en la compra de insumos como jeringas, agujas, recipientes de fraccionamiento y guantes.

Sumado a esto se estimó el gasto de los viajes para la compra y reposición de medicamentos, correspondiente a la utilización de 10 litros de combustible por persona, lo que se redujo considerablemente al delegar estas tareas en el delegado local responsable del

mantenimiento del botiquín comunitario. Esto representó un gasto 35 veces menor.

Gráfico 1. Costos por producto.

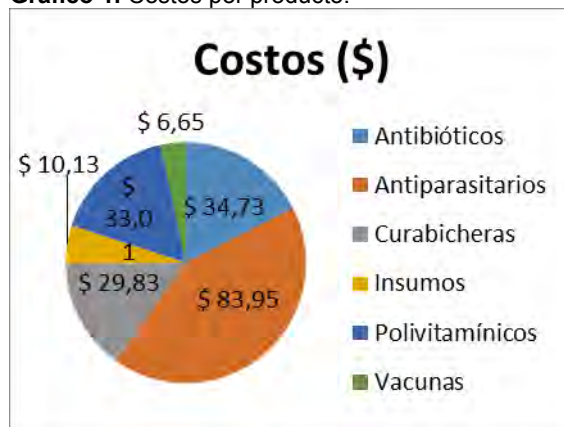
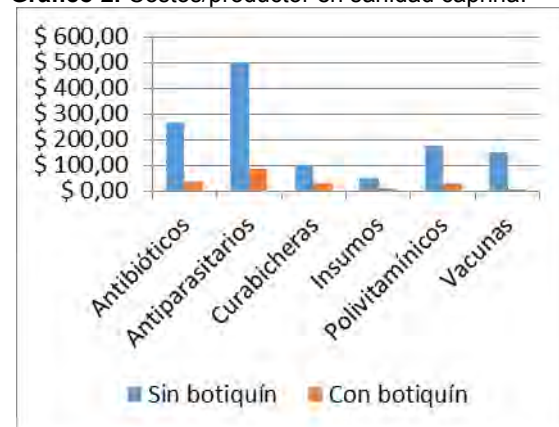


Gráfico 2. Costos/productor en sanidad caprina.



Discusión y Conclusiones

El trabajo asociado de pequeños productores alejados de los centros urbanos posibilitó la incorporación de medidas sanitarias a sus majadas, que se vio reflejado con posterioridad en la disminución de la incidencia de patologías recurrentes en la zona y en un menor costo por productor, tanto en insumos como en transporte.

Queda en discusión la importancia de un trabajo de base previo en la dinámica asociativa y de consolidación comunitaria, sumado a una fuerte tarea de capacitación en sanidad caprina para la utilización correcta de los productos veterinarios.

Bibliografía

- Olaizola P. y Ferro E. 2011. Alternativas asociativas para el abordaje integral de la actividad ganadera de pequeños productores en el Dpto. Molinos, Valle Calchaquí, Salta.
- Raso M. y Col. 2007. Manual para Botiquines Veterinarios Comunitarios. EEA INTA Esquel.
- Bedotti D. y Rossanigo C. 2011. Manual de reconocimiento de enfermedades del caprino.

BRUCELOSIS CAPRINA: ESTUDIO SEROLÓGICO EN REBAÑOS DEL ESTE DE SALTA, ARGENTINA

Gaido, A.¹; Salatin, A.¹; Neumann, R.¹; Marinconz, R.²; Rossetto, C.³; Aguirre, N.⁴; Suárez, V.¹; Aguirre, D.H.¹
¹INTA EEA Salta; ²Subsecretaría de Agricultura Familiar, Salta; ³INTA Prohuerta; ⁴INTA EEA Rafaela

Introducción

La Brucelosis caprina causada por *Brucella melitensis* incide negativamente en la reproducción de los rebaños y permanece como una de las más importantes y extendidas zoonosis en el mundo. La enfermedad en las cabras se caracteriza por abortos, nacimiento de crías poco viables y mermas en la producción lechera. En los machos puede dar orquitis y epididimitis con consecuente infertilidad.

La provincia de Salta mantiene unos 197.347 caprinos, en su mayoría criados por pequeños productores de muy bajo nivel socioeconómico. La Brucelosis caprina fue históricamente considerada endémica en Salta, al igual que en otras provincias del Noroeste argentino, como Catamarca.

Materiales y Métodos

Entre agosto de 2007 y octubre de 2010 se realizó un estudio serológico para determinar el estatus de la brucelosis caprina en rebaños del este de Salta (Departamentos de Rivadavia, Anta y Gral. San Martín). El área corresponde a la región Chaqueña, caracterizada por clima semiárido, con temperatura media anual de 22 °C y precipitaciones entre 400 y 600 mm anuales. El muestreo fue por conveniencia, sin diseño estadístico, atento a la disposición de los propietarios de los rebaños para aceptar los requerimientos propios del estudio.

Se obtuvo un total de 3.315 muestras de sangre de caprinos adultos (3.017 hembras, 298 machos) de 163 rebaños (113, 31 y 19 en Rivadavia, Anta y Gral. San Martín, respectivamente) que conformaban una población cercana a los 14.000 caprinos. Los sueros fueron procesados por la prueba diagnóstica tamiz del antígeno bufferado en placa (BPA) y por la prueba de fijación del complemento (FC) como confirmatoria.

Resultados

Doscientas diecisiete muestras (6,5%) pertenecientes a 28 rebaños (17,1%) resultaron positivas a BPA y luego confirmadas por FC. La proporción de rebaños infectados para cada Departamento fue: 16,8% (Rivadavia), 3,2% (Anta) y 42,1% (Gral. San Martín).

Discusión

Un estudio realizado tres décadas antes en rebaños caprinos del Departamento Rivadavia arrojó una prevalencia individual de Brucelosis de 14,9%, con 70% de majadas infectadas. En el mismo estudio consiguió aislarse *B. melitensis* biotipo 1 de cuatro muestras de leche y tres hisopados vaginales de cabras, así como de un hemocultivo humano, tomado de una niña de 10 años internada con síntomas de brucelosis aguda en el hospital de Morillo (Cnel. Juan Solá). Estudios serológicos previos y actuales en rebaños caprinos de los Valles Áridos y Templados de Salta no determinaron presencia de reactores a brucelosis.

Estos resultados indican que la situación epidemiológica de la Brucelosis caprina dentro y entre rebaños de los Departamentos del este salteño difiere marcadamente de otras áreas agroecológicas de la provincia.

Bibliografía

- Condron, R.J., Späth, E.J.A., Ríos, L.G. de, González, R.N., Häbich, G.E., Bisceglia, L., Córdoba, S., Rivero, M., Jiménez, J.C., Kühne, G.I., Guglielmo, A.A., Herrera, C., Benítez, E.N., Salem, E.A. y Fortuny, N. 1980. Brucelosis caprina y humana en el departamento Rivadavia, provincia de Salta, Argentina. Bol. Of. Sanit. Panam. 88: 432-439.
- Iglesias Casal, J. 1990. Exposición breve de la problemática regional y trabajos desarrollados. En: Aspectos técnico-metodológicos del accionar frente a la problemática de la brucelosis caprina. Mem. Mesa Redonda, INTA EEA Catamarca, Argentina, pp. 28-32.
- Aguirre, D.H., Cafrune, M.M., Rebuffi, G.E. y Vanzini, V.R. 1999. Brucelosis caprina en el departamento Santa Victoria, provincia de Salta. Therios 28: 114-117.
- Barbera, M.A. y Chávez, M.D. 2011. Zona agroeconómicamente homogénea del Chaco Semiárido con ganadería y forestales: Sistemas de producción. Ediciones INTA, INTA Salta, Argentina, 68 p.
- Gaido, A.B., Colque Puppi, F., Bravo, R.D., Grossberger, G.G., Cortez, H.S., Bertoni, E.A., Salatin, A.O., Aguirre, D.H. 2016. Brucelosis caprina: encuesta serológica en majadas de los Valles Calchaquíes, provincia de Salta, Argentina. Rev. Arg. Zoon. y Enf. Inf. Emerg. 11: 85-88.

***ENFERMEDADES
PARASITARIAS***

TABLA DE CONTENIDOS

Epidemiología de las parasitosis internas en ovinos de la Puna Jujeña.....	109
Epidemiología de la gastroenteritis verminosa en caprinos lecheros de áreas bajo riego de los Valles templados del NOA.....	111
Parásitos internos de ovinos, caprinos y llamas en la reserva provincial de Laguna Blanca (Catamarca..	113
Situación de <i>Fasciola hepatica</i> al sur del paralelo 48° S.....	115
Efectos sobre parámetros productivos de corderos de raza Texel infestados naturalmente con <i>Fasciola hepática</i>	117
Alta mortalidad provocada por fasciolosis clínica en una majada de cabras en Salta, Argentina.....	119
Cisticercosis visceral por <i>Cysticercus tenuicollis</i> en ovinos de faena en la provincia de Santa Cruz, Argentina.....	121
Confirmación molecular de infección natural por <i>Sarcocystis gigantea</i> en ovinos de Argentina.....	123
Mortalidad por coccidiosis aguda en cabritos Angora de Río Negro, Argentina.....	125
Evaluación de un tratamiento metafilático para coccidiosis intestinal en Caprinos.....	127
Caso de Cenurosis (<i>Coenurus cerebralis</i>) clínica crónica en ovinos de Salta, Argentina.....	129
Tratamiento con Ivermectina y Levamisol en ovinos infestados con Nematodos: Eficacia clínica y efecto en la producción.....	131
Evaluación farmaco-parasitológica de tres lactonas macrocíclicas en nematodos resistentes de ovinos..	133
Eficacia comparativa de Ivermectina, Abamectina y Moxidectina contra nematodos resistentes en corderos	135
Influencia de la vía de administración en la actividad de ivermectina contra <i>Haemonchus contortus</i> resistente en ovinos.....	137
Detección de resistencia antihelmíntica en nematodos gastrointestinales de ovinos mediante técnicas <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i>	139
Eficacia de Monepantel contra Nematodos de ovinos con resistencia antihelmíntica múltiple en la región templada de Argentina.....	141
Eficacia comparativa de la moxidectina (oral vs inyectable) en nematodos gastrointestinales (<i>Haemonchus spp</i>) de los caprinos resistentes a la ivermectina.....	143
Evaluación del incremento de la dosis terapéutica en el tratamiento combinado con ivermectina y fenbendazol sobre <i>Haemonchus contortus</i> resistente.....	145
Eficacia de Ivermectina y Moxidectina contra <i>Haemonchus contortus</i> resistente: Efecto de la dosis.....	147
Eficacia del monepantel para el control de aislamientos de <i>Haemonchus contortus</i> y <i>Trichostrongylus spp.</i> con resistencia múltiple en caprinos.....	149
Resistencia antihelmíntica múltiple (Closantel, febendazole, Ivermectina y Levamisole) en <i>Haemonchus spp.</i> parasitando a ovinos en la provincia de Santa Fe.....	151
Resistencia antihelmíntica en establecimientos productivos ovinos en la región semiárida pampeana....	153
Recuperación de la eficacia en <i>Haemonchus contortus</i> por reemplazo de las poblaciones parasitarias y manejo de refugio.....	155
Famacha y su relación con el valor del hematocrito y hpg en cabras de San Luis.....	157
Evaluación antihelmíntica <i>in vitro</i> de extractos vegetales de especies autóctonas del norte argentino.....	159

Distribución de la melofagosis ovina en Argentina y su relación con las temperaturas ambientales.....	161
Caracterización de la situación de la melofagosis en la provincia de Tierra del Fuego, Argentina.....	163
<i>Melophagus ovinus</i> : infestación experimental de ovinos y supervivencia del parásito en el medio ambiente.....	165
Influencia de la temperatura ambiental en el periodo pupal de <i>Melophagus ovinus</i> en Patagonia.....	167
Temperaturas del vellón en ovinos Merino y su relación con las temperaturas del medio ambiente en Patagonia.....	169
Supervivencia de <i>Bovicola ovis</i> (<i>Phthiraptera: Trichodectidae</i>) en condiciones de laboratorio.....	171
Caso de Tungiosis (<i>Tunga penetrans</i>) en rumiantes menores de en rumiantes menores de Salta, Argentina.....	173
Evaluación coprológica de Helmintiasis gastrointestinales en pequeños rumiantes de la Quebrada del Toro, Salta.....	175
Evaluación de la efectividad in vitro de cipermetrina y diazinon sobre el piojo ovino <i>Bovicola ovis</i> (<i>Phthiraptera: Trichodectidae</i>).....	176
Prevalencia coprológica de helmintos gastrointestinales en camélidos sudamericanos del Noroeste Argentino.....	177
Disimil infestación parasitaria en vicuñas (<i>Vicugna vicugna</i>) silvestres de dis áreas de la Puna Argentina.....	179
Hallazgos parasitológicos en guanacos (<i>Lama guanicoe</i>) diagnosticados en el Laboratorio de Parasitología de la EEA INTA Bariloche (2001-2010).....	181
<i>Lamanema chavezii</i> (Nematoda: Molineidae): Datos epidemiológicos de la infestación en camélidos sudamericanos del NOA.....	183
<i>Sarcocystis aucheniae</i> en llama (<i>Lama glama</i>) de Laguna Blanca, Catamarca, Argentina.....	185
Seropositividad a <i>Sarcocystis</i> en llamas correlacionada a prácticas de manejo.....	187
Desarrollo de una PCR semianidada dúplex para la detección de ADN de <i>Sarcocystis aucheniae</i> en muestras de sangre de llama.....	189
Prevalencia y abundancia de coccidios (<i>Eimeria spp.</i>) en vicuñas (<i>Vicugna vicugna</i>) del altiplano argentino.....	191
Descripción clínico-patológica de brotes de Sarna Sarcóptica en vicuñas (<i>Vicugna vicugna</i>) y llamas (<i>Lama glama</i>) de Jujuy, Argentina.....	193
Procesamiento de muestra de sangre de llama: purificación de glóbulos blancos.....	195
Desarrollando vacunas para el control de parásitos protozoos en rumiantes.....	197

EPIDEMIOLOGÍA DE LAS PARASITOSIS INTERNAS EN OVINOS DE LA PUNA JUJEÑA

Suarez, V.H.¹; Echazú, F.²; Viñabal, A.E.¹

¹INTA Salta; ²INTA Abra Pampa, Jujuy

Introducción

La Puna jujeña está situada a más de 3300 m de altura sobre el nivel del mar; es árida, posee un régimen de lluvias estivales que en el lugar de estudio es de 270 mm distribuidos de diciembre a marzo y una temperatura media de 7,1 °C con gran amplitud térmica diaria. Bajo estas condiciones, la ganadería es la actividad principal y está llevada a cabo en más del 90% por productores familiares, generando entre el 70 y 80% de producto en algunos Departamentos (Cochinoca y Rinconada) que la integran (Echenica *et al.*, 2015). Dentro de la producción ganadera los ovinos juntos con las llamas y en menor medida los bovinos son las actividades que más ingresos proporcionan. Según datos del CNA 2002, en Jujuy, el ganado ovino representa el 56% del total, siendo criado en un 88% por productores familiares, mostrando esto la gran importancia económica que esta especie representa para los sistemas de la agricultura familiar. La adaptación del ovino a las rigurosas condiciones climáticas y de aridez descriptas para la Puna hacen de esta especie un pilar importante en la economía de las familias puneñas que crían lanares con la finalidad de autoconsumo, venta de carne, y trabajar su lana.

Debido a la importancia del lanar y a los escasos antecedentes con que cuenta la región, el presente ensayo tiene como objetivo estudiar la epidemiología y posibles efectos de los parásitos internos sobre la salud de los ovinos de la Puna.

Imagen de ovinos en la puna (Chorcan, Jujuy).



Materiales y Métodos

El material de estudio comprendió 30 ovejas de razas Corriedale (n=16), Merino (n=7) y Manchega (n=7) que componían una la majada de 300 ovinos de la EEA INTA Abra Pampa, criada a 3680 m de altura sobre el nivel del mar. Durante el período de observaciones la majada no fue servida. La majada que estaba naturalmente infestada, fue estudiada desde el 2-nov-2010 hasta fines de ene-2011. Mensualmente se tomaron muestras de heces para realizar conteos de huevos (hpg) y diferenciación de géneros de nematodos por coprocultivos. Además se recuperaron e identificaron nematodos adultos e inmaduros (Suarez, 1997) de un grupo de ovejas representativas de la majada que fueron sacrificadas cada tres meses.

Resultados

Los hpg de las ovejas mostraron una elevación desde la primavera hasta hacer pico a mediados del verano, para descender a mediados de otoño (Tabla 1 y Figura 1). Aunque los números de muestras analizadas fueron bajos las ovejas Merino muestran una tendencia a presentar hpg más elevados.

Tabla 1. Variación de los conteos de huevos (hpg) de las ovejas en ensayo separadas por razas.

	Corriedale	Merino	Manchega
oct	497	767	374
dic	1271	923	1688
feb	3308	5764	4002
abr	218	160	1030
jul	113	220	300
sept	312	162	125
ene	2138	6932	3168

El porcentaje de géneros recuperados en heces por coprocultivos fue para *Haemonchus* 91,8%, *Trichostrongylus* 7,5% y *Teladorsagia* y *Nematodirus* 0,67%; indicando una prevalencia del género *Haemonchus*. Los vermes recuperados del cuajo e intestinos muestran mayor abundancia de *Haemonchus contortus* que se eleva hacia los veranos y disminuye en otoño e invierno. Es notorio que durante la primavera se recuperan además de formas adultas, estadios L4 iniciales y en menor medida estadios en desarrollo. La Tabla 2 muestra la prevalencia de los helmintos

recuperados de los ovinos sacrificados donde predomina *Haemonchus contortus*.

Figura 1. Variación estacional de los conteos de huevos (hpg) en las tres razas observadas.

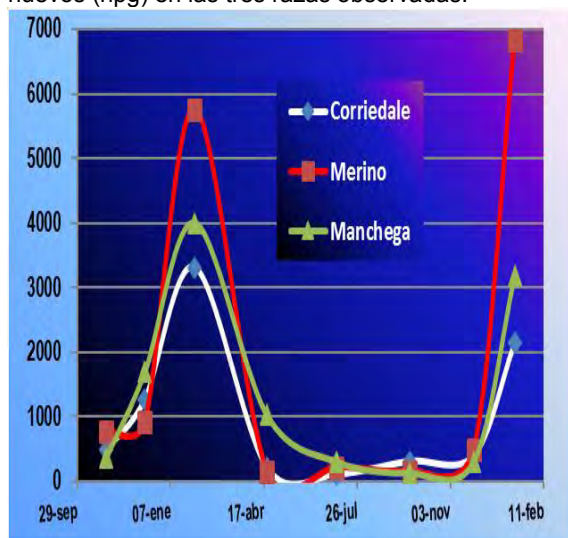


Tabla 2. Prevalencia de helmintos recuperados.

Especies de helmintos	Prevalencia
<i>Haemonchus contortus</i>	90,1%
<i>Trichostrongylus colubriformis</i>	8,6%
<i>Nematodirus spathiger</i>	0,42%
<i>Trichuris spp</i>	0,13%
<i>Thysanosoma actinioides</i>	0,68%

La mayores cargas parasitarias fueron recuperadas en febrero y promediaron los 1500 *Haemonchus* adultos y 100 *Trichostrongylus* spp., aunque de agosto a octubre se hallaron la mayor proporción de formas inmaduras de *Haemonchus* y mayores números de *Trichostrongylus* (300).

Discusión

Los hpg muestran una clara elevación hacia mediados del período de lluvias. En cuanto a diferencias raciales, la adaptación a la puna de la raza Merino pareciera no ser tan buena como la de las otras razas y la predispondría desfavorablemente frente a los nematodos.

Haemonchus contortus muestra una notable adaptación a la Puna, a pesar de las escasas precipitaciones estivales y la gran amplitud térmica y con temperaturas nocturnas que frecuentemente descienden los -15°C .

Ovinos en el INTA (Abra Pampa, Jujuy)



Las poblaciones logran alcanzar cifras elevadas en un corto período favorable de solo 3 meses; a mediados de verano sus poblaciones alcanzan dimensiones perjudiciales para la salud y producción de los lanares, registrándose en la majada en estudio algunas ovejas muertas por haemonchosis durante el mes de febrero. La presencia de formas inmaduras en primavera podría indicar que hubo un freno de desarrollo de las larvas ingeridas al final del período de lluvias y una adaptación para sobrevivir a la adversidad invierno-primaveral.

Aunque solo de forma preliminar se puede concluir que *Haemonchus* es el nematodo que más perjuicios causa a los ovinos y que debe ser controlado al inicio del verano. Sin embargo muchos aspectos de la epidemiología de la haemonchosis deben ser estudiados en el futuro para comprender mejor la epidemiología de las parasitosis internas y su control.

Bibliografía

- Echenique M, Chávez MF, Vittar MC, Longoni A. 2015. La producción y comercialización de carne de la Agricultura Familiar en la Puna Jujeña. Ediciones INTA; 119 p. ISBN: 9789875216419.
- Suarez, V.H. 1997. Diagnóstico de las parasitosis internas de los rumiantes en la región de invemada. Técnicas e Interpretación. Bol. Divulgación Técnica (INTA-Anguill), 56, 50 p.
- Suarez, V.H., 2007. Epidemiología y control de los nematodos gastrointestinales en el oeste de la Región Pampeada. In: Suarez, V.H.,
- Olaechea, F.V., Rossanigo, C.E., Romero, J.R. (Eds), Enfermedades parasitarias de los ovinos y otros rumiantes menores en el Cono Sur de América, Ediciones INTA PT. 70, Anguill, Argentina, pp. 43-62.

EPIDEMIOLOGÍA DE LA GASTROENTERITIS VERMINOSA EN CAPRINOS LECHEROS DE ÁREAS BAJO RIEGO DE LOS VALLES TEMPLADOS DEL NOA

Suarez, V.H.¹; Fondraz, M.²; Viñabal, A.E.¹; Martínez, G.M.¹; Salatin, A.O.¹
¹INTA - EEA Salta; ² F. Veterinaire, U. de Toulouse, Francia

Introducción

A pesar que la información sobre la epidemiología de la gastroenteritis verminosa (GEV) en cabras es escasa, existen descripciones que indican de su gravedad en tambos caprinos en el NOA (Aguirre *et al.*, 2002). Debido a esto, el objetivo del presente ensayo fue evaluar la epidemiología y los efectos de los nematodos gastrointestinales en cabras en ordeño en el Valle de Lerma, Salta. Mediante prueba de reducción del conteo de huevos (PRCH) se diagnosticó resistencia antihelmíntica en el rebaño caprino estudiado. Se halló, una eficacia de la moxidectina (MXD) y del levamisol (LVM) respectivamente del 100% y 1% contra *Haemonchus* y del 30% y 58% contra *Trichostrongylus*; además de resistencia frente a los benzimidazoles.

Materiales y Métodos

Se evaluaron 41 cabras (mayormente Saanen) naturalmente infestadas desde octubre 2010 hasta el final del ordeño en mayo 2011. Se formaron 2 grupos: PJ (n=17) paridas en junio y PS (n=24) paridas en septiembre. El ensayo comenzó para PJ y PS respectivamente a los 90 y 20 días posparto. En diciembre y fin de abril las cabras de más de 2800 hpg (PJ: n=2; PS: n=6) fueron tratadas respectivamente con LVM (8 mg/kg) y MXD (200 mcg/kg). Mensualmente se realizaron conteos de huevos (hpg) y diferenciación de géneros de nematodos (Suarez, 1997). Se enviaron mensualmente pares de cabritos "tracers" con el propósito de evaluar la disponibilidad de larvas en el pasto. Se recuperaron nematodos de caprinos afectados con GEV. El rinde lácteo individual se midió antes y después de un tratamiento en otro lote de cabras en ordeño (mayo/10), formándose un grupo tratado con MXD (n=14) y otro de cabras en ordeño sin desparasitar (n=14).

Resultados

Los hpg de las cabras del PJ fueron más bajos que las del PS desde el inicio. Probablemente las del PS presentaron una elevación posparto. Hacia fines de diciembre los hpg debido a hpg elevados (mayormente en PS) fueron desparasitadas. Al inicio del verano y del otoño los hpg se elevaron. (Tabla 1).

Tabla 1. Promedio de los hpg de los grupos de cabras en ordeño PJ y PS y del grupo tratado con LVM y MXD.

2010-2011	Paridas en junio (PJ)	Paridas en sept, (PS)	Tratadas (>2800 hpg) dic: LEV; abr: MXD
4-oct	1085	1868	
15-nov	1033	2331	
21-dic	1026	2169	2169
13-ene	2004	2325	586
14-feb	1097	1045	977
09-mar	1664	2105	1600
19-abr	1800	3696	3696
26-may	2616	2100	460

La prevalencia de especies recuperada a partir de las cabras afectadas por GEV fue para *Haemonchus contortus* (12,6%), *Trichostrongylus colubriformis* (84,5%), *T. axei* (1,4%), *Teladorsagia circumcincta* (1%) y *Trichuris* sp. (0,5%).

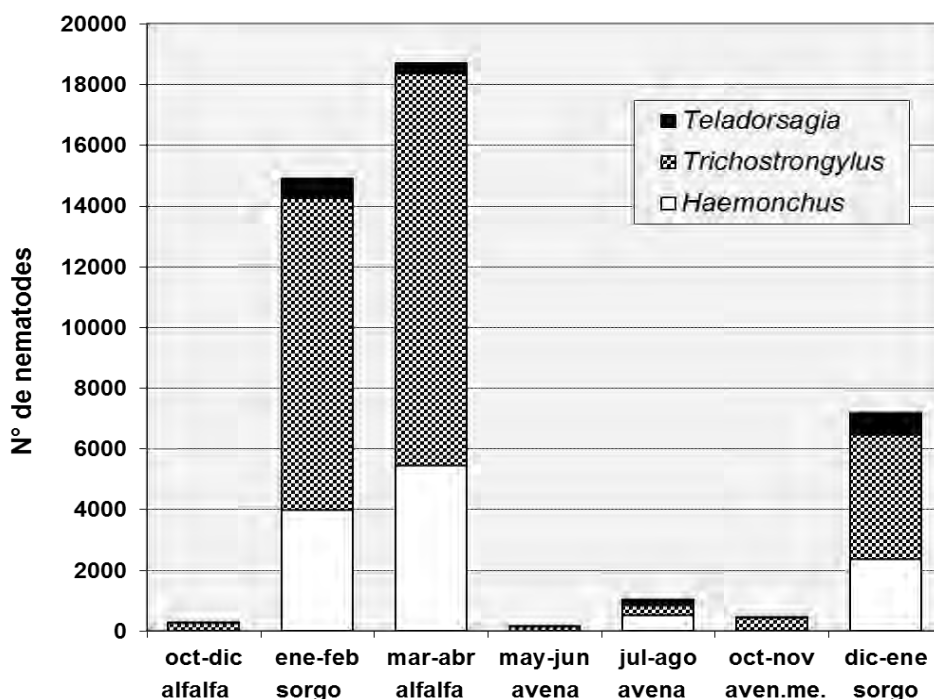
La Figura 1 muestra los nematodos recuperados de los cabritos tracers durante el ensayo. En la figura se muestra que la disponibilidad de vermes en las pasturas fue mayor de enero a abril (n= 95,6%) y menor de mayo a noviembre el menor (n= 4,4%), con una prevalencia anual de *Haemonchus* del 31% y de *Trichostrongylus* del 63%.

Se observaron diferencias significativas (P<0,02) en la producción de leche en respuesta al tratamiento con MXD (200 mcg/kg SC) cuya eficacia fue del 82% (Tabla 2).

Tabla 2. Conteo de huevos (hpg) y producción de leche pre y pos tratamiento con MXD.

Grupos	Grupo Tratado	Grupo Control
hpg pre tratamiento	2196	624
hpg pos tratamiento	400	2327
Leche pre tratamiento (ml)	1230	1450
Leche pos tratamiento (ml)	1460	1506
Diferencia entre pre y pos tratamiento (ml)	230	56
Incremento	15%, P<0,02	

Figura 1. Promedio de los nematodos recuperados de los cabritos tracers sacrificados luego de pastorear durante 45 días con las cabras en ordeño desde octubre 2010 a fines de enero 2012. Aven.me.: avena y melilotus.



Discusión

Se puede concluir que *Haemonchus contortus* y *Trichostrongylus colubriformis* son los nematodos que más perjuicios causan a los caprinos en los valles templados del NOA, aunque muchos aspectos de la epidemiología de la nematodos deben ser estudiados y profundizados en el futuro.

También en cuanto a la reducción en la producción de leche esta diferencia debido a la eficacia del MXD se produjo a partir de la reducción total de las cargas de *Haemonchus* y reducción parcial (30%) de las de *Trichostrongylus*.

Se puede concluir, que bajo las condiciones de explotación de los valles templados, el período de riesgo se presenta desde el inicio del verano hasta mediados de otoño. El riego ofrece condiciones favorables para la supervivencia los vermes durante la estación seca, aunque su disponibilidad sea reducida. Probablemente, debido al mayor porcentaje de resistencia de *Trichostrongylus* frente a ambos antihelmínticos usados, es que su prevalencia en este rebaño fue superior a la de *Haemonchus*.

A pesar de que solo fue durante un período corto del ordeño de las cabras en otoño, se logró observar una respuesta favorable al tratamiento del 15% en el rinde lácteo.



Bibliografía

- Aguirre, D.H., Cafrune, M.M., Viñabal, A.E., Salatin, A.O. 2002. Aspectos epidemiológicos y terapéuticos de la nematodiasis gastrointestinal caprina en un área subtropical de la Argentina. RIA, 31 (1), 25-40.
- Suarez, V.H. 1997. Diagnóstico de las parasitosis internas de los rumiantes en la región de invernada. Técnicas e Interpretación. Bol. Divulgación Técnica (INTA-Anguil), 56, 50 p.

PARÁSITOS INTERNOS DE OVINOS, CAPRINOS Y LLAMAS EN LA RESERVA PROVINCIAL DE LAGUNA BLANCA (CATAMARCA)

Cardozo, P¹; Luque, S²; Cafrune, M³; Rojas, M¹; Rigalt, F¹; Lloberas, M⁴
¹INTA EEA Catamarca; ²CONICET; ³INTA EEA Salta; ⁴INTA EEA Balcarce

Introducción

La Reserva de Biósfera de Laguna Blanca se ubica al norte del departamento de Belén, en la región de puna de la provincia. La región se destaca por la presencia de serranías que van desde los 3.200 m.s.n.m - 5500 m.s.n.m, y las zonas bajas están ocupadas por lagunas, siendo la de mayor tamaño la Laguna Blanca, con 3450 ha. Es un clima riguroso, continental, frío y seco, con temperaturas mínimas por debajo de los 0° C y una amplitud térmica diaria que supera los 30° C, las precipitaciones están concentradas en los meses de diciembre a marzo, son de carácter torrencial y fluctúan entre 50 y 150 mm anuales. Estas condiciones críticas de sequías, frecuentes heladas y la altura determinan ambientes frágiles y de baja biodiversidad, con zonas de suelo desnudo con pedregal y arena, contrastando con vegas, estepas y salares.

Los sistemas pastoriles se caracterizan por ser extensivos, casi siempre trashumantes, de baja productividad y basados en el aprovechamiento de la vegetación natural. Los rodeos están compuestos por majadas de ovinos, caprinos y camélidos sudamericanos (SC) (llamas). El pastoreo se realiza en tierras fiscales, sin alambrados perimetrales y las majadas de distintos propietarios y animales silvestres comparten puntos de pastoreo, aguadas y en ocasiones los refugios. El estrecho contacto entre animales silvestres y domésticos, aspectos climáticos y el manejo del sistema influyen en la dinámica de la tríada parasitaria. En este sentido, diferentes estudios parasitológicos describen la presencia de helmintos y protozoos gastrointestinales especie - específicos en la fauna silvestre autóctona, como así también propios del ganado ovino y bovino (Beldomenico *et al.*, 2003, Rojo, 2016).

El objetivo del trabajo fue describir el estatus parasitario de un sistema de producción típico de pastoreo comunitario en la puna de Catamarca en otoño-invierno de 2015.

Materiales y Métodos

Se tomaron 10 muestras de materia fecal de la ampolla rectal de cada una de las especies estudiadas (ovinos, caprinos y CS (llamas)), en el mes central de las estaciones de otoño e invierno. El conteo de huevos y ooquistes por

gramo de materia fecal (HPG y OPG) se realizó para estimar de forma indirecta la presencia de parásitos en el tracto gastrointestinal. Para esto, las muestras fueron procesadas por el método de Mc Master modificado. A partir de las muestras positivas, se hizo coprocultivo e identificación de larvas infestivas de las muestras para conocer los géneros parasitarios involucrados en el HPG. Se realizaron dos muestreos de pasto para evaluar el nivel de infestación de las pasturas. También se realizó la necropsia parasitológica de un ovino en otoño y una llama en invierno, con el fin de obtener información precisa del tipo y número de parásitos adultos presentes. En forma complementaria, se realizó la digestión péptica de la mucosa abomasal de ambos animales para recuperar estadios inmaduros y pre adultos.

Resultados

A continuación se muestran los resultados de HPG y OPG de los animales muestreados.

Tabla 1. Promedios de HPG.

HPG	Otoño	Invierno
Ovinos	68	0
Caprinos	0	0
CS (llamas)	52	0

Tabla 2. Promedios de OPG.

OPG	Otoño	Invierno
Ovinos	0	33600
Caprinos	0	840
CS (llamas)	0	2876

El HPG de otoño estuvo formado por huevos tipo strongiloideos y de *Lamanema sp.* y *Trichuris sp.*, estos últimos fueron identificados durante el conteo de HPG debido a la morfología particulares de cada géneros.

En el coprocultivo de las muestras de ovejas y CS (llamas) de otoño se identificaron *Haemonchus sp.*, *Tricostrongylus sp.* y *Ostertagia sp.* No se recuperaron larvas infestantes de las muestras de pasto tomadas. En la necropsia de otoño se recuperaron

parásitos adultos de *Haemonchus sp.*, *Trichostrongylus sp.* y *Ostertagia sp.* Mientras que en la de invierno se encontraron *Ostertagia sp.*, *Trichostrongylus sp.*, *Cooperia sp.* y *Capillaria sp.* La digestión péptica se recuperaron formas inmaduras de *Trichostrongylus sp.* y *Teladorsagia sp.*

Discusión

La sanidad en los sistemas tradicionales de producción conjunta de rumiantes y (CS) es escasa y los productores se limitan a realizar tratamientos antiparasitarios cada tres meses, sin diagnóstico previo y sin rotación de productos. Si bien los CS tienen fauna parasitaria específica, son igualmente infestados por parásitos de las especies domésticas, en particular de pequeños rumiantes con los que comparten áreas de pastoreo e instalaciones. En las majadas estudiadas, los conteos de HPG fueron más elevados en los meses de verano, posterior a la época de lluvia. Esto se condice con los resultados de Aguirre (2002) que reporta las mayores cargas entre los meses de enero a junio, en tres años de muestreos en el Valle de Lerma, Salta. Géneros parasitarios como *Haemonchus spp.*, *Trichostrongylus spp.*, y *Ostertagia spp.* tienen una presentación más estacional si se los compara con *Trichuris spp.*, *Capillaria spp.* y *Toxocara spp.* Probablemente, la mayor resistencia de éstos últimos géneros a las sequías y amplitud térmica puede explicarse debido a que la forma infestante se desarrolla dentro del huevo o al eclosionar la L3.

A pesar de que los promedios de OPG fueron elevados, durante los muestreos no se observó la presentación clínica de la enfermedad parasitaria. Concomitantemente con el OPG de CS se realizó la identificación de *Eimerias spp.* propias de camélidos en base a las características morfométricas de los ooquistes, y se evidenció la presencia de *E. lamae* y *E. macusaniensis*, *E. alpaca*, *E. punoensis* y *E. ivitaensis*. (Leguía, 1999).

Los coprocultivos tuvieron escasa cantidad de larvas L3 recuperadas, por lo que los resultados se expresan como géneros presentes y no como porcentaje. Esto puede deberse a la menor presencia de huevos tipo strongiloideos en los HPG. Debido a la particular morfología de los huevos de especies como *L. chavezii*, *Trichuris spp.*, *Capillaria spp.*; fueron identificados al HPG.

No se recuperaron larvas infestivas de los muestras de lavado de pasto, esto puede estar relacionado a la mayor dispersión de las (L3) parasitarias típico de los sistemas extensivos.

En cuanto a las necropsias, los resultados confirmaron lo hallado en los HPG en cuanto a la diversidad de géneros presentes en las majadas. En estos ambientes, las especies que hagan hipobiosis, como es el caso de *Teladorsagia sp.* y aquellas que presenten huevos más resistentes en el medio serían los de mayor presencia en la puna.

La diversidad genérica hallada en este trabajo se pudo lograr mediante la complementariedad de las técnicas diagnósticas. Esto toma mayor relevancia si se considera que los géneros identificados a partir de coprocultivo e identificación de L3 fueron los menos, debido, en parte a la menor presencia de huevos tipo strongiloideos. En ambientes áridos como la puna prevalecen las especies específicas de CS y aquellas que la forma infestante puede independizarse en mayor o menor medida de las fluctuaciones de temperatura, la humedad y la tensión de oxígeno.

Dadas las extremas condiciones medioambientales es posible pensar que la infestación de un año al otro se produce a partir de la hipobiosis en el animal.

Conclusión

Este trabajo genera información sobre las parasitosis internas en una zona poco estudiada; sin embargo, es necesario continuar con los estudios para establecer factores de riesgo y medidas de manejo que se ajusten a las necesidades y particularidades de la región.

Bibliografía

- Aguirre, D., Cafrune, M., Viñabal, A., Salatin, A. 2002. Aspectos epidemiológicos y terapéuticos de la nematodiasis gastrointestinal caprina en un área subtropical de la Argentina. *RIA. Revista de Investigaciones Agropecuarias*, 31 (1), 25-39
- Beldomenico, P.; Uhart, M.; Bono, M.; Marull, C.; Balbi, R.; Peralta, J. 2003. Internal parasites of free-ranging guanacos from Patagonia. *Veterinary Parasitology* 119. 71-77.
- Leguía, D. y Casas E. 1999. Enfermedades parasitarias y atlas parasitológico de camélidos sudamericanos. Editorial de Mar, Lima.
- Londoño, B.; Chavez, V.; LI, O.; Suarez, F.; Pezo, D. 2009. Presencia de caracoles *Lymnaeidae* con formas larvianas de *F. hepatica* en altitudes sobre los 4000 m.s.n.m. en la Sierra Sur del Perú. *Revista Investigaciones Veterinarias, Perú*; 20 (1): 58 - 65.
- Rojo, V. 2016. Análisis de la dinámica de la vegetación de la Puna jujeña en relación con los ungulados domésticos y silvestres y su impacto sobre la desertificación. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de La Plata, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales.

SITUACIÓN DE *Fasciola hepatica* AL SUR DEL PARALELO 48° S

Aguilar, M.J.¹; Olaechea, F.V.²
¹INTA San Julián; ²INTA Bariloche.

Introducción

La fasciolosis, produce importantes pérdidas económicas en la producción ganadera. Trabajos previos informan que se han encontrado hígados afectados por este parásito en majadas que pastoreaban en Patagonia al norte del paralelo -48° (Olaechea 2003), siendo este el límite sur de presentación. El objetivo del trabajo fue ampliar la información existente sobre la distribución de *Fasciola hepatica* (Fh) en rumiantes del centro y sur de la provincia de Santa Cruz.

Materiales y métodos

El área en estudio incluyó establecimientos ganaderos ubicados en la provincia de Santa Cruz al sur del paralelo -48°.

Se recolectaron registros históricos, promedios, de temperaturas de las zonas en estudio (Río Gallegos, Gobernador Gregores y Pto. San Julián) de 17 años (enero de 1991 a diciembre de 2008) de la base de datos del Servicio Meteorológico Nacional.

Se realizó una encuesta sobre la presencia de Fh en las distintas zonas a productores, Médicos Veterinarios y matarifes con el fin de aportar datos a la investigación y orientar los muestreos.

Se compilaron los registros de decomisos de los últimos cinco años de las 9 inspecciones, de todos los frigoríficos y mataderos del área en estudio.

Se muestrearon 35 majadas recolectando 366 muestras de heces para la observación de huevos de Fh mediante la técnica de sedimentación-filtración, y se inspeccionaron 742 hígados para determinar la presencia del parásito.

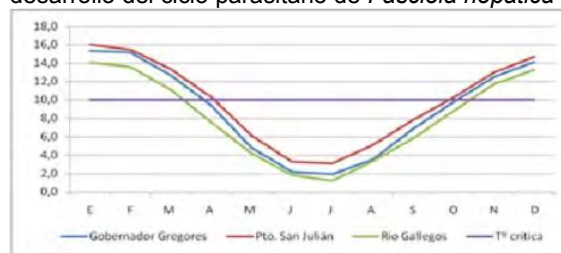
En 15 establecimientos, seleccionados por su accesibilidad, se relevaron vegas en búsqueda del huésped intermediario. La técnica consistió en recolectar caracoles con un colador, los cuales fueron conservados en alcohol 70° en frascos individuales, previa identificación del sitio, hasta su tipificación. La identificación se basó en la comparación morfológica de los caracoles muestreados con ejemplares de *Lymnaea viatrix*.

Resultados

La media térmica de 10°C o más, se observa entre los meses de noviembre a marzo en el sur provincial (Río Gallegos), y en el período comprendido entre octubre a abril en el centro

provincial (Pto. San Julián y Gobernador Gregores) (Figura 1).

Figura 1. Temperaturas promedios mensuales históricas del centro y sur de la provincia de Santa Cruz con definición de la temperatura crítica para el desarrollo del ciclo parasitario de *Fasciola hepatica*



Se obtuvo información de 83 establecimientos donde 33 (39,7%) conocen el parásito, y 10 (12%) expresan tener el parásito, de los cuales solo 7 realizan tratamientos con fasciolidas. Se consultaron 18 Médicos Veterinarios, 5 de ellos sabían de la presencia de Fh en el Río Seco (centro provincial); asimismo se consultaron un total de 4 matarifes del centro provincial, ninguno de ellos conocía la Fh ni contaban con información.

Se analizaron registros de faena y decomisos de siete establecimientos (3 mataderos municipales y 4 frigoríficos exportadores) ubicados en el centro y sur provincial. En ningún caso de los 2.648.226 ovinos faenados se registró el hallazgo de Fh.

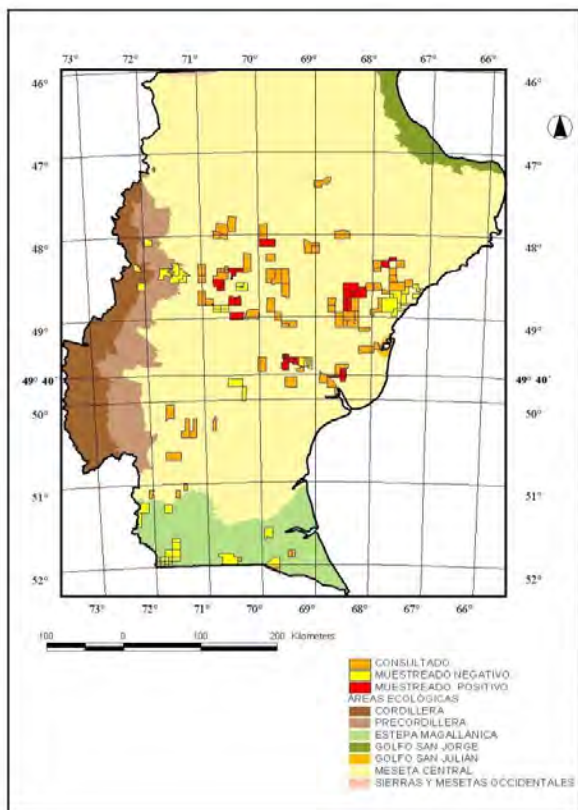
De los 35 establecimientos muestreados (materia fecal e hígados) 16 (45,7%) resultaron positivos al diagnóstico de Fh. En la figura 2 se observa un mapa con las áreas ecológicas y los establecimientos ganaderos consultados y aquellos que fueron muestreados (heces e hígados) con los resultados obtenidos.

En 6 de los 15 establecimientos relevados se identificó al huésped intermediario *Lymnaea viatrix*.

Discusión y Conclusiones

En Patagonia han descripto a Fh en majadas que se encontraban pastoreando al norte del paralelo -48°. Si bien en Chile hubo registros excepcionales de hallazgos de faena en la XII Región es de presumir que hayan sido de animales provenientes de otras zonas ubicadas al norte (paralelo -45°). Actualmente consideran a la XII Región como libre de Fasciolosis, debido a que la temperatura promedio no supera los 10°C por más de dos meses.

Figura 2. Mapa de áreas ecológicas con los establecimientos consultados y muestreados.



Si bien el 39,7% de los productores encuestados reconoce el parásito, este porcentaje se considera sobreestimado, debido a que algunos productores confunden Fh con *Thysanosoma actinoides*, hecho observado por los autores al momento del muestreo en algunos de los establecimientos. La información obtenida en la encuesta a los profesionales, resultó ser más precisa y confiable, inclusive 5 de ellos coincidieron en señalar establecimientos ubicados en el centro provincial, donde posteriormente se confirmó la presencia del parásito. No hubo mención de Fh más al sur del paralelo -48°.

Las observaciones propias de la inspección de hígados a la necropsia mostraron que el 5,9% de los examinados fueron positivas al hallazgo de tremátodos, las cuales pertenecieron al 52,1% de los establecimientos muestreados. Si bien se han hallado otros parásitos con ubicación hepática, tales como *Thysanosoma actinoides* y *Cisticercus tenicuollis*, no se encontraron quistes hidatídicos.

A nivel de mataderos o frigoríficos, no hubo registro oficial en los datos de faena sobre la presencia del parásito. Teniendo en cuenta que el 70% de los animales faenados pertenecen a la categoría cordero, la probabilidad de encontrar hígados con lesiones compatibles con fasciolosis es baja. El 30% restante de animales faenados tenían más de un año de vida. En estos, el no registro de Fh pudo

deberse a: 1) las vísceras no fueron inspeccionadas por no realizarse la comercialización de los hígados, 2) si bien fueron examinadas, no se ha llevado registro de los hallazgos, o hubo fallas en la confección de los registros de decomisos o en la inspección de los hígados. Estas fallas de información se demuestran al observar que se han faenado ovinos de campos con presencia confirmada de esta parasitosis y en los mataderos o frigoríficos consultados no se han registrado decomisos por distomatosis.

En lo referido a la identificación del huésped intermediario, en el 40% de las muestras colectadas se halló *Lymnaea viatrix*, localizándose en manantiales del centro provincial y en los márgenes del Río Chico. Esta distribución coincide con lo reportado por Paraense (2005).

Al analizar las temperaturas medias históricas del centro de Santa Cruz (Puerto San Julián y Gobernador Gregores), observamos que el periodo comprendido entre los meses de octubre a abril, sería considerado el más favorable para el desarrollo del ciclo parasitario ($\geq 10\text{ }^{\circ}\text{C}$). La presencia de Fh confirma que estas condiciones son adecuadas para la persistencia del ciclo. Por otro lado, el período más propicio en el sur provincial (Río Gallegos), es de noviembre a marzo. Las diferencias encontradas entre el centro y sur provincial en temperatura ambiental, iguales o mayores a los $10\text{ }^{\circ}\text{C}$, es de aproximadamente 2 meses. Esto sumado a otros factores relacionados al microambiente necesario para la evolución de los estadios libres del parásito serían las limitantes más evidentes del desarrollo del ciclo parasitario en el sur provincial.

Mediante el presente trabajo, se confirma la presencia de Fh hasta el paralelo -50°, zona centro de la provincia de Santa Cruz.

Bibliografía

- Olaechea FV. *Fasciola hepatica*. En: Suárez, V; Olaechea, F; Romero, J; Rossanigo, C (eds.) Enfermedades parasitarias de los ovinos y otros rumiantes menores en el cono sur de América. INTA EEA Anguil 2007. pp 159 – 168
- Paraense, L. *Planorbidae, Lymnaeidae and Physidae* of Argentina. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Río de Janeiro 2005. 100 (5): 491 – 493.
- Schenone H; Rojas A. Epidemiología de la Fasciolosis animal en Chile. Tendencia de las tasas de infección. 1977 – 1986. Boletín Chileno de Parasitología 1998. 43: 68-70.

EFFECTOS SOBRE PARÁMETROS PRODUCTIVOS DE CORDEROS DE RAZA TEXEL INFESTADOS NATURALMENTE CON *Fasciola hepatica*

Apóstolo, R.¹; Ceballos D.¹; Villa M.¹; Tracaman, J.²

¹Grupo Producción Animal INTA Esquel; ²Campo Experimental Agroforestal INTA Trevelin

Introducción

La fasciolosis, enfermedad causada por el trematode *Fasciola hepatica*, es considerada una de las enfermedades parasitarias más importantes de los ruminantes domésticos. En la zona de cordillera al noroeste de Chubut se dan las condiciones óptimas en cuanto a suelo, humedad y temperatura para el desarrollo del huésped intermediario y de los estadios de vida libre, lo que condiciona a que en la zona la fasciolosis sea un problema endémico. Las pérdidas económicas debidas a la ocurrencia de casos subclínicos (reducción en la producción de carne, leche y lana y los gastos por el uso de antihelmínticos) son difíciles de detectar y cuantificar. En Argentina la información regional sobre los grados y las condiciones de la fasciolosis para que disminuya la producción es escasa. A fin de ampliar el conocimiento y cuantificar el impacto de esta parasitosis se establecieron los siguientes objetivos de trabajo:

- Comparar parámetros productivos en corderos de raza Texel a partir de estar o no infestados naturalmente con *Fasciola hepática*.
- Cuantificar las pérdidas en la producción de carne que se producen por esta parasitosis.

Materiales y Métodos

Se trabajó con 38 corderos de raza Texel, de 203 ± 16 días de edad, pertenecientes a un establecimiento de cordillera al noroeste de Chubut. A mediados de enero, los corderos fueron destetados y entraron a pastorear un mallín manejado rotativamente. El 1-03-2012 fueron desparasitados con Triclabendazole (TCBZ) (Fasinex[®] 10%, Novartis 10 mg/kpv) ya que en un examen coprológico realizado a mediados de febrero resultaron positivos a *F. hepática*. A fin del mes de marzo se controló el tratamiento y todos los animales muestreados dieron negativos a *F. hepática*. El 8-5-2012, debido a la certeza de infección de *F. hepática* revelado por la muerte de un cordero por fasciolosis aguda, se formaron 2 grupos de corderos. El grupo 1 (G1) conformado por 21 corderos que no fueron desparasitados y el grupo 2 (G2) conformado por 17 corderos se les administró TCBZ (Fasinex 10%, Novartis 10 mg/kpv). Los grupos no fueron homogéneos en cuanto a peso vivo (PV) y condición corporal

(CC) inicial ya que la selección de los mismos dependió de factores externos al ensayo. Los animales siguieron pastoreando en el mallín y desde el 17-05-2012 comenzaron a ser suplementados con 893 gr/día en promedio, con un balanceado comercial para corderos (18% proteína bruta y 2.6 Mcal/kg MS). A ambos grupos se determinó el PV y CC cada 15 días. La ganancia diaria de peso vivo (GDPV, gr/días) se estimó mediante regresiones lineales entre el PV y edad. La faena se realizó de manera escalonada desde el 31 de mayo hasta el 11 de julio en función al PV y CC. En las canales se evaluaron: peso de canal caliente (PCC, kg), rendimiento de la canal (Rto, %) y el grado de engrasamiento fue medido a través de la profundidad de los tejidos sobre la 12^a costilla a 11 cm de la línea media (punto GR, mm). Post faena los hígados fueron pesados y estudiados para determinar grado de daño hepático (sin daño, Foto 1; leve, Foto 2; moderado, Foto 3; grave, Foto 4) y cantidad de fasciolas. Para ello se cortaba el órgano en láminas de 3 cm de ancho y se colectaban las fasciolas que se observaban a simple vista. Luego los trozos de hígado eran colocados en un recipiente con agua tibia, apretados y dejados en reposo, luego de un tiempo, se cambiaban a otro recipiente con agua tibia mientras que se dejaba al primero reposando para que sedimentara. Lo mismo luego se hizo con el segundo recipiente. Al sedimento (previo lavados) se lo observó en lupa para identificar los estadios inmaduros. Las variables productivas fueron evaluadas como un diseño completamente aleatorizado con efecto fijo del tratamiento y efecto aleatorio de la variación genética de los corderos utilizando el Proc GLM de SAS. Por otro lado, se incluyeron covariables como edad, grado de cruzamiento de las madres y el peso vivo y condición corporal inicial dentro del modelo de análisis.

Resultados y Discusión

En relación al daño hepático, el 58,8% de los hígados del G2 no presentaron daño o el daño era leve, no detectándose casos de daño grave. La cantidad de fasciolas (maduras e inmaduras) para G2 fue en promedio de 0,88 (0-3) por hígado. En los hígados del G1 se observó que el 81% presentaba daño moderado y grave, no detectándose ningún hígado sin lesión. La cantidad de fasciolas encontradas fue de 77,95 promedio (1-329). Inicialmente el PV y CC del G2 fue

significativamente mayor al G1. En general, los corderos tratados tuvieron 4.9 kg más de PV y un cuarto de punto más de CC al inicio de la

Foto 1

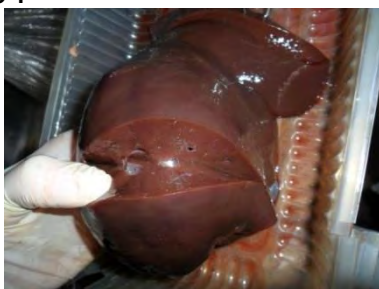


Foto 2



Foto 3



Foto 4



experiencia (Cuadro 1). Posiblemente esto determinó que el PV faena y PCC de G2 fueran significativamente superior a los del G1. Al final del período no se encontró diferencias entre la CC y GR entre los corderos G1 y G2 debido a que los corderos fueron faenados con CC similares. En relación a la GDPV fue similar entre los dos tratamientos. En este caso las medias fueron ajustada por el PV y CC inicial dentro del modelo análisis como covariable. Esto podría explicarse por los diferentes PV y CC al inicio del ensayo ya que a partir de estas diferencias, los corderos más pesados (tratados G2) tendrían un mayor costo energético en la GDPV y un mayor requerimiento de mantenimiento que los livianos (no tratados G1). En función a lo mencionado, los corderos del G2

tendrían que haber tenido una menor GDPV que los corderos del G1.

No obstante tuvieron la misma GDPV. También podría deberse a que el 100% de los corderos G2 fue faenado el 28-6-2012 y, hasta esa fecha, el 62% de los corderos G1 había sido faenado.

Cuadro 1. Análisis de las variables productivas analizadas en corderos Texel de 203 ± 16 días de edad sin tratar y tratados con Triclabendazole

Variables	G1	G2	p valor
PV inicial (kg)	29.2 ± 0.89	34.5 ± 0.99	<0.01
CC inicial (kg)	2.6 ± 0.06	2.8 ± 0.07	0.01
GDPV ¹ (gr/día)	123.8 ± 13.1	100.2 ± 16.1	Ns
PV faena (kg)	35.3 ± 1.17	38.6 ± 1.10	0.05
CC faena (kg)	3.02 ± 0.06	3.24 ± 0.07	0.05
PCC ² (kg)	15.6 ± 0.49	17.5 ± 0.46	<0.01
Rto (%)	44.1 ± 0.53	45.7 ± 0.50	0.04
GR (%)	5.2 ± 0.62	6.1 ± 0.58	Ns

Ns: $p > 0.05$. ¹ Variable ajustada por el PV y CC inicial. ² Variable ajustada por la edad. (PV: Peso Vivo; CC: Condición Corporal; GDPV: Ganancia Diaria de Peso Vivo; PCC: Peso de Canal Caliente; Rto: Rendimiento de la canal y GR: Grado de engrasamiento)

En cuanto a la suplementación, que duró 55 días, se comenzó con 285 gr MS/cor/día y se finalizó con 1.500 gr MS/cor/día, por lo que el 38% de los corderos de G1 se terminaron con un nivel más alto de suplementación. En referencia la Rto, el G2 presentó un mayor ($p < 0.04$) rendimiento. En general mostró un 1,4% más de Rto que el G1. Esto podría ser explicado a un aumento relativo de peso en el tejido gastrointestinal y a la presencia de exudados en cavidades como resultado de la hipoproteinemia causada por el daño hepático. En este sentido, el peso del hígado de los corderos G1 tendió a ser más pesado que los corderos G2.

Conclusiones

Si bien existen diferencias cuantitativas en parámetros productivos de carne entre animales no tratados y tratados contra F. hepática, es necesario generar más información sobre la base de ensayos controlados a fin de determinar el impacto de esta parasitosis en áreas endémicas del país.

ALTA MORTALIDAD PROVOCADA POR FASCIOLISIS CLINICA EN UNA MAJADA DE CABRAS EN SALTA, ARGENTINA

Micheloud, J.F.^{1,2}; Lewis, T.²; Cseh, S.³; Cafrune, M.M.¹; Viñabal, A.E.¹; Aguirre, D.H.¹
¹INTA – IIACS Leales/ EEA Salta; ²FCVyV, Universidad Católica de Salta; ³INTA-EEA Balcarce

Introducción

La fasciolosis es una enfermedad parasitaria que produce grandes pérdidas en la ganadería. La infestación por *Fasciola hepatica* (FH) afecta un amplio rango de hospedadores, sin embargo la problemática se describe sobre todo en bovinos y ovinos. Los informes de fasciolosis son más escasos en los caprinos, aun cuando registros de Asia señalan altas prevalencias de esta parasitosis, al extremo de comprometer la producción caprina en las áreas infestadas. En Argentina los reportes de fasciolosis en cabras son escasos, aunque varios trabajos sugieren elevados niveles de infestación en ciertas regiones. Ovinos y caprinos son muy susceptibles al parasitismo por FH y no poseen resistencia a la reinfección. El presente trabajo describe un brote de fasciolosis en cabras asociado a una elevada mortalidad en Salta, Argentina.

Materiales y Métodos

En mayo de 2014, el Servicio Especializado de Diagnóstico de INTA Salta fue consultado a causa de una mortandad por goteo en un hato de cabras situado cerca de Payogasta (25°02' S, 66°06'W, Salta, Argentina). La localidad se ubica en el área fito-geográfica de Valles Áridos con una altitud media de 2596 m.s.n.m. con lluvias inferiores a los 390 mm anuales que se concentran durante el verano. La temperatura media anual es de unos 10°C con una elevada amplitud térmica diaria. La majada problema contaba con unas 300 cabras que se alimentaban sobre pasturas naturales. El área de pastoreo estaba bañada por arroyos de vertiente, de poco caudal. Durante la visita se examinó clínicamente el hato y algunos individuos enfermos. Dos de los más afectados, se sometieron a eutanasia y a una necropsia completa, seleccionándose muestras para histopatología que fueron procesadas por las técnicas histológicas clásicas. Además, se colectaron 20 muestras (16 cabras adultas y 4 cabritos; Tabla 1) de heces y de sangre para diagnóstico coproparasitológico de FH y evaluación de enzimas hepáticas [aspartato aminotransferasa (AST) y gamma-glutamilttransferasa (GGT)], proteínas totales (PT) y albúmina (Alb), según técnicas descritas en trabajos previos. Finalmente, toda la majada fue tratada con triclabendazole a dosis de 10 mg/kg peso vivo. Quince días después se tomaron nuevas muestras de

materia fecal (n = 20) para evaluar la respuesta al antiparasitario.

Resultados

La mortandad, iniciada en diciembre de 2013, se prolongó hasta abril de 2014 y alcanzó al 23% (70/300). La mayoría de las muertes se registró entre enero y febrero. Clínicamente se evidenció pérdida de peso progresiva, adinamia y edema submaxilar. El conteo de huevos de FH arrojó una prevalencia del 100% en las cabras adultas y del 75% en los cabritos. Los hallazgos parasitológicos y bioquímicos (AST, GGT, PT y albúmina) se presentan en la Tabla 1. La coprología post-tratamiento mostró ausencia total de huevos de FH.

Tabla 1. Hallazgos parasitológicos y bioquímicos.

N	Huevos de FH	AST (U/l)	GGT (U/l)	PT (g/100 ml)	Alb. (g/100 ml)
1	58	55,7	69	7,1	2,9
2	266	15,4	40	5,6	2,0
3	37	37,8	58	7,8	3,2
4	302	46,7	18,5	6,1	3,1
5	185	33,6	58	5,2	3,0
6	140	72,6	232	8,2	2,3
7	64	45,3	139	7,0	2,9
8	31	68,6	127	6,7	2,7
9	197	37,8	104	5,5	2,2
10	297	37,1	46	6,9	3,3
11	26	41,4	46	6,6	3,9
12	310	35,8	23	4,8	2,6
13	285	26,4	23	5,8	2,7
14	277	26,8	40	7,0	3,0
15	52	36,6	35	6,6	3,4
16	19	41	58	7,1	2,4
17*	0	41,2	35	6,1	3,7
18*	1	36	35	5,9	3,6
19*	412	33,3	93	7,4	4,1
20*	2	45,1	29	6,6	4,2
\bar{x}	148,0	40,7	65,4	6,5	3,0
DS	134,1	12,9	50,6	0,84	0,6

* Cabritos de entre 6 a 8 meses de edad

Macroscópicamente se observó ascitis e hígado de apariencia contraída, nodular y consistencia firme. La cápsula de Glisson estaba engrosada mostrando múltiples adherencias. En los conductos biliares se observaron numerosos ejemplares adultos de FH. Histopatológicamente se evidenció fibrosis, e hiperplasia de los conductos biliares con presencia de vermes adultos en su interior. Otros hallazgos incluyen la infiltración de células inflamatorias peri-ductales constituidas por linfocitos, eosinófilos, células plasmáticas y

macrófagos; asociada a severa fibrosis. Además, se apreciaron focos de necrosis con nódulos de regeneración. Algunas áreas del parénquima presentaban túneles migratorios caracterizados por abundante necrosis y hemorragia.

Discusión

Se arribó al diagnóstico de la enfermedad basándose en los hallazgos clínicos, patológicos, parasitológicos y bioquímicos encontrados. Varios trabajos consideran que los caprinos están menos expuestos a la fasciolosis que otras especies de ganado, tanto por sus preferencias de hábitat como por su hábito de pastoreo, que incluye una proporción considerable de especies arbustivas. Ello parece avalado por los escasos registros de esta parasitosis en cabras. Así, por ejemplo, los precedentes hallados para América se limitan a los trabajos de Schenone y Rojas (1988) quienes informaron la forma crónica en caprinos de Chile. Otros trabajos comunicaron fasciolosis clínica en cabras del estado norteamericano de Montana. Igualmente en Argentina las observaciones son limitadas y el presente trabajo aporta una nueva evidencia de la presentación clínica de esta parasitosis en el ganado caprino demostrando a sensibilidad de la especie a FH. En algunas regiones de Salta FH parece tener gran impacto, así trabajos previos señalan una prevalencia promedio del 61,9 %. En este caso la prevalencia fue del 100% en cabras adultas. La presencia de cabritos jóvenes parasitados sugiere una alta oferta de metacercarias en el ambiente. La ausencia de huevos post- tratamiento indica gran eficacia del triclabendazole para el tratamiento de FH en esta ocasión. Las lesiones microscópicas halladas indicaron procesos de infección y reinfección reiteradas ya que coexisten lesiones de daño agudo y crónico. Por esto, se puede presumir que las muertes observadas durante el brote pudieron deberse a cuadros agudos y crónicos. Las enzimas hepáticas se encontraron dentro de los límites normales o levemente aumentadas lo que coincide con trabajos experimentales en que los niveles de GGT aumentan unas 6 semanas post-infección alcanzando niveles máximos 4 semanas después y luego disminuyeron rápidamente a los niveles normales en la semana 17 post-infección. Los valores promedios de PT y albúmina estuvieron dentro de los límites de normalidad, aunque el 40% y el 25 % de las muestras estaban por debajo de los límites inferiores citados respectivamente y esto puede deberse al daño hepático producto de la infestación por FH. La infección por FH en humanos es considerada una zoonosis emergente por la Organización Mundial de la Salud (OMS), y los informes más

recientes estiman que 2.4 millones de personas estarían infectadas en el mundo. La presencia de animales parasitados parece ser determinante en la diseminación de FH y su transmisión al hombre. Tanto en el hombre como en los animales esta parasitosis no es de denuncia obligatoria. Además debe tenerse en cuenta que el diagnóstico de certeza puede demorarse mucho tiempo ya que la enfermedad puede pasar desapercibida mucho tiempo hasta que se vuelve visible clínicamente. Esto hace pensar que el área de riesgo sea mucho mayor como así también el número de infestados. En la región de estudio no se cuentan con antecedentes sobre esta enfermedad en humanos. Sin embargo en Sudamérica, el riesgo de transmisión es conocido y elevado en algunas poblaciones de Bolivia, Perú y Ecuador, en donde la población humana participa activamente en la transmisión debido a sus hábitos alimentarios y las condiciones deficientes de saneamiento.

Epidemiológicamente, se reconocen tres patrones de distribución de la enfermedad: hipoendémicos, mesoendémicos (3-8%) e hiperendémicos (10-66% y hasta el 100% en ciertos grupos laborales). La alta prevalencia detectada en animales en este caso sugiere que la región puede encontrarse en riesgo epidemiológico. Estos datos ameritan estudiar más en profundidad la distribución de FH tanto en animales como humanos.

La descripción de este caso aporta información regional sobre el impacto de la fasciolosis y pone en evidencia que deben establecerse líneas de trabajo para conocer su epidemiología y establecer futuras medidas de control.

Bibliografía

- Aguirre, D.H., Cafrune, M.M., Salatin, A.O. y Abeyá, A.A. 2005. Fasciolosis clínica en cabras de Metán, Salta, Argentina. Rev. FAVE - Ciencias Veterinarias 4: 17-21.
- Cafrune, MM, Rebuffi GE, Cabrera RH & Aguirre D.H. 1996. Fasciola hepatica en llamas (Lama glama) de la Puna argentina. Vet. Arg. 13: 570-574 -
- Grossberger, G., Viñabal, A.E., Cafrune, M.M., Suarez, V.H. y Aguirre, D.H. 2013. Evaluación coprológica de nematodiasis gastrointestinales y fasciolosis en pequeños rumiantes de la Quebrada del Toro, Salta. Revista Argentina de Producción Animal. 33 (Supl.1), p. 36.
- Martínez-Moreno, A., Jiménez-Luque, V., Moreno, T., Redondo, E.S., de las Mulas, J.M. and Pérez, J. 1999. Liver pathology and immune response in experimental *Fasciola hepatica* infections of goats. Vet Parasitol 82: 19-33.
- Schenone, H. & A. Rojas. 1988. Epidemiología de la fasciolosis animal en Chile. Tendencia de las tasas de infección, por regiones, en cinco especies de mamíferos de consumo beneficiados en mataderos del país (1976-1978). Bol. Chil. Parasitol. 43:68-70.

CISTICERCOSIS VISCERAL POR *Cysticercus tenuicollis* EN OVINOS DE FAENA EN LA PROVINCIA DE SANTA CRUZ, ARGENTINA

Santana, J.¹; Martínez, A.²; Soulés, A.³; Milicevic, F.¹; Marcellino, R.²; Larroza, M.²; Robles, C.²
¹Agencia de Extensión Rural, INTA Río Gallegos; ²Grupo de Salud Animal, INTA Bariloche; ³Área de Inocuidad y Calidad Agroalimentaria, SENASA Río Gallegos

Introducción

Durante la zafra 2014-2015, en un frigorífico ubicado en la ciudad de Río Gallegos, provincia de Santa Cruz, llamó la atención el aumento de decomisos de vísceras rojas en corderos, debido a la presencia de lesiones macroscópicas en hígado y en menor medida en pulmón, corazón y peritoneo, siendo que según los registros de SENASA, la cantidad de vísceras rojas decomisadas en corderos, históricamente era escasa.

Teniendo en cuenta que el matadero constituye un lugar relevante para la detección de enfermedades y patologías en el ganado de faena, se decidió realizar una tarea de investigación diagnóstica para determinar la etiología de las lesiones observadas a la faena en tropas de corderos procedentes de dos establecimientos ovejeros de la provincia de Santa Cruz a fin de poder dar respuesta y una posible solución a los productores afectados.

Materiales y Métodos

Se trabajó en una planta frigorífica ubicada en la ciudad de Río Gallegos, provincia de Santa Cruz, con capacidad de faena de 3.000 corderos diarios, en donde se muestrearon animales de dos tropas ovinas pertenecientes a dos establecimientos de la provincia de Santa Cruz ubicados el primero de ellos en el departamento de Güer Aike en el área ecológica de Estepa magallánica húmeda y el segundo en el departamento Lago Argentino en el área ecológica de Matorral de mata negra. La tropa N° 1 estaba conformada por 411 corderos de la raza Corriedale con un peso promedio de la carcasa fría de 13.5 Kg. y la tropa N° 2 por 400 corderos de la raza Merino Multipropósito con un peso promedio de la carcasa fría de 6.5 Kg. De cada una de estas tropas, se observaron en la mesa de inspección, las vísceras rojas correspondientes a 50 animales de cada establecimiento. Para laboratorio, se tomaron cinco muestras de hígado de no más de 0,5 cm. de espesor para estudios histopatológicos, abarcando zonas sanas y afectadas. Dichas muestras fueron conservadas en solución de formol buferado al 10% y una vez fijadas fueron incluidas en parafina, cortadas a 5µ y teñidas con Hematoxilina y Eosina (HyE). También se tomaron cinco muestras de hígado con lesiones que se conservaron en alcohol 70%, para su

análisis parasitológico mediante observación directa bajo lupa estereoscópica. Finalmente se seleccionaron 2 muestras de hígado con lesiones que fueron congeladas en recipientes estériles para procesamiento bacteriológico. Las muestras fueron homogeneizadas en solución fisiológica y se sembraron a razón de 200 µl en placas de agar sangre y agar McConkey, se incubaron en aerobiosis, con 10% de CO₂ y en anaerobiosis a 37° C por 48 horas. Las colonias sospechosas se repicaron en pureza y se identificaron mediante tinción de Gram y pruebas bioquímicas.

Resultados

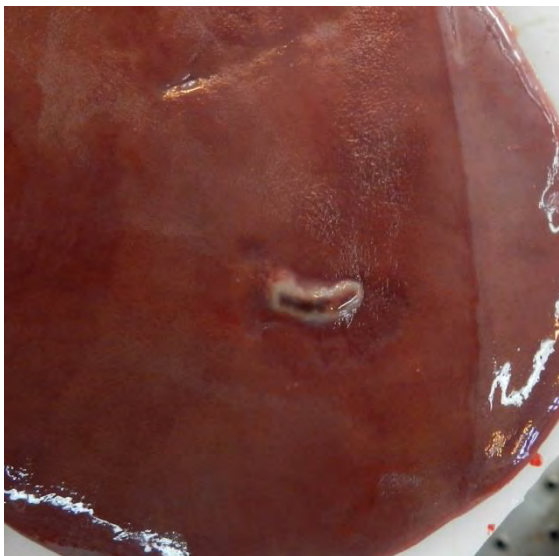
En animales de ambos establecimientos, se observaron lesiones macroscópicas similares en los hígados examinados, tanto en la superficie como en profundidad del órgano, con presentación única o múltiple. El porcentaje de animales afectados fue del 78% para el establecimiento 1 y del 30% en el establecimiento 2.

Al examen macroscópico de las muestras de hígado, se observaron estrías o surcos subcapsulares de 10 a 20 mm de largo por 2 mm de ancho, que en ocasiones eran rojizas con aspecto fluctuante y hemorrágicas (Foto 1a) y en otras eran blancas con aspecto sólido al tacto (Foto 1b). Estas lesiones se observaron tanto a nivel subcapsular como en la profundidad del parénquima al corte.

Foto 1a. Lesión roja: surco hemorrágico en superficie hepática.



Foto 1b. Lesión blanca: surco blanco en superficie hepática.



Microscópicamente, ambos tipos de lesiones se caracterizaron por tener un centro necrótico acompañado por abundante inflamación no supurativa mediada principalmente por células mononucleares. En las estrías o surcos rojos se observó hemorragia sin presencia de fibrosis. En las estrías o surcos blancos se observó fibrosis moderada formando una cápsula y presencia de colonias bacterianas.

En el examen parasitológico de las muestras de hígado, en tres de ellas se observó la presencia de vesículas blandas de distinto tamaño, de pared fina y contenido translucido con un único escólex de cuello largo invaginado en su interior. Estas vesículas en su mayoría, estaban adheridas a la superficie del hígado. Los cisticercos presentaban la morfología característica de *Cysticercus tenuicollis*, estadio larvario de *Taenia hydatigena*.

De los cultivos bacteriológicos se aisló *Enterococcus spp.* del grupo D y *Escherichia coli*.

Discusión y Conclusiones

En el trabajo en frigorífico fue frecuente el hallazgo de lesiones en hígado en forma de estrías o surcos subcapsulares de color rojo o blanquecino, compatibles con lo descrito por Peris Palau y col. para casos de cisticercosis visceral de ovinos en España. Asimismo mediante estudios parasitológicos se detectó la presencia de vesículas con contenido acuoso transparente que contenían un único escólex invaginado con un largo cuello compatibles con cisticercos de *Taenia hydatigena*. Si a estos hallazgos sumamos que el problema ocurrió en corderos de 90 a 120 días de edad al momento de la faena, se concluye que el problema se corresponde con cisticercosis visceral debido a la infestación de los animales por la forma

larvaria o metacestode *Cysticercus tenuicollis* de la *Taenia hydatigena*.

Los altos valores de prevalencia hallados en los dos establecimientos estudiados y el aumento de los decomisos a la faena con un alto impacto sanitario, productivo y económico en las majadas ovinas de Santa Cruz, marcan la necesidad de estudiar esta enfermedad con mayor profundidad en la región, sobre todo enfocados a clarificar el rol de los hospedadores definitivos clásicos y los no clásicos como cánidos silvestres y perros asilvestrados, felinos silvestres y zorros que abundan en la región y sobre los cuales hay reportes en otros lugares del mundo que dan cuenta de que pueden ser portadores de *Taenia hydatigena* e incluir a otros posibles hospedadores intermediarios como los bovinos y guanacos, que conviven y comparten territorio con los ovinos. Asimismo sería necesario estudiar la dinámica de la enfermedad y relacionarla con posibles factores que han favorecido un incremento de la prevalencia, como pueden ser los fenómenos relacionados con el cambio climático, cambios en las prácticas de manejo ganaderas, introducción de razas ovinas más susceptibles, etc.

Agradecimientos

Al Frigorífico Estancias de Patagonia S.A., a la Méd. Vet. Sandra Patrucco del Servicio de Inspección Veterinaria del SENASA y a los señores Eduardo González Ruiz y Miguel O'Byrne de CAFROPAT.

Bibliografía

- Khaniki, G.R.J; Kia, E.B.; Raeil, M. 2013. Liver condemnation and economic losses due to parasitic infections in slaughtered animals in Iran. J. Parasit. Dis, Vol 37(2):240-244.
- Brook, I.; Frazier, E.H. 1998. Microbiology of liver and spleen abscesses. J Med Microbiol, Vol 47:1075-1080.
- Pathak, K.M.L.; Gaur, S.N.S. 1982. The incidence of adult and larval stage *Taenia hydatigena* in Uttar Pradesh (India). Vet Parasitol, Vol 10 (1):91-95.
- Peris Palau, B.; Garcia Martin, J.F.; Badiola Diez, J.J. 1987. Cisticercosis visceral ovina: causa principal de decomisos de hígados en corderos de engorde en mataderos: aspectos lesionales e incidencia. Med. Vet, Vol 4 (5-6):289-296.
- Senlik, B. 2008. Influence of host breed, sex and age on the prevalence and intensity of *Cysticercus tenuicollis* in sheep. J Anim Vet Adv, Vol 7 (5):548-551.
- Singh, B.B.; Sharma, R.; Gill, J.P.S.; Sharma, J.K.. 2015. Prevalence and morphological characterisation of *Cysticercus tenuicollis* (*Taenia hydatigena* cysts) in sheep and goat from north India. J Parasit Dis, Vol 39 (1):80-84, 2015.

CONFIRMACIÓN MOLECULAR DE INFECCIÓN NATURAL POR *Sarcocystis gigantea* EN OVINOS DE ARGENTINA

Gual, I.^{1,2}; Bartley, P.³; Katzer, F.³; Innes, E.³; *Cantón, G.¹; Moore, P.^{1,2}
¹INTA EEA Balcarce; ²CONICET; ³Moredun Research Institute, Escocia

Introducción

La sarcocystosis ovina es una enfermedad causada por protozoos del género *Sarcocystis* sp., cuyo ciclo biológico es indirecto obligado. Se caracteriza por la formación de quistes tisulares y por cursar en forma crónica subclínica en la mayoría de los casos. Las especies adaptadas al ovino son: *S. gigantea* (*ovifelis*), no virulento y cuyo hospedador definitivo (HD) es el gato; *S. tenella* (*S. oviscanis*), de alta virulencia, y *S. arieticanis*, de virulencia intermedia, que tienen ambos al perro como HD; y *S. medusiformis*, no virulento cuyo HD es el hombre. Las especies más virulentas pueden ocasionar anemia, fiebre intermitente, pérdida de peso y muerte en corderos, y reducción en la producción de leche, pérdida de estado, disnea, abortos y signos nerviosos por encefalomiелitis en ovinos adultos.

En el presente estudio se describirá un caso de infección por *S. gigantea* en un ovino adulto en la provincia de Buenos Aires.

Materiales y Métodos

Se realizó la necropsia de una oveja Corriedale de 3 años de edad y con una gestación de 4 meses, de una majada ubicada en el partido de Balcarce, provincia de Buenos Aires. La misma había sido observada con una progresiva pérdida de estado corporal y se había hallado muerta unas horas antes.

Durante la necropsia se recolectaron tejidos que fueron fijados en formol bufferado al 10% para realizar estudios histopatológicos de rutina, inmunoquímicos y moleculares.

Se realizó la técnica de inmunohistoquímica (IHQ) en las secciones de tejido que se observaron lesiones usando un anticuerpo policlonal generado en conejos contra *S. tenella* y un kit comercial (Dako, USA).

Además, se extrajo ADN de las muestras de tejido fijados en formol y parafinados usando kits comerciales en los que se realizó una PCR para protozoos (de alta sensibilidad pero baja especificidad) y luego una PCR con cebadores y sondas más específicos de género *Sarcocystis* spp. Luego, el ADN amplificado de la segunda PCR fue enviado a secuenciar para determinar la especie.

Resultados

Durante la necropsia se observó: edema subcutáneo en zona pectoral, hidrotórax seroso (1 lt. aprox.), alimento parcialmente digerido en tráquea y bronquios, hidropericardio serosanguinolento, ascitis serosanguinolento (3 lts. aprox.), escaso contenido ruminal, puntillado rojo de 1 mm en la superficie renal, congestión, aumento del tamaño de la glándula adrenal derecha (3 cm), y grasa pericárdica y perirrenal con aspecto gelatinoso amarillento traslúcido. A lo largo de toda la serosa esofágica y faríngea se observaron alrededor de 100 formaciones blanquecinas elípticas (posibles quistes) de 3-5 × 5-8 mm de diámetro, firmes al tacto. Una sustancia gelatinosa ámbar traslúcida (edema) se observó alrededor de los quistes presentes en el esófago en su porción torácica. Además se hallaron alrededor de 15 quistes hidatídicos de 2-5 cm de diámetro en el hígado y 2 quistes de 5 cm de diámetro en el lóbulo craneal de pulmón derecho.

Microscópicamente, se observó que los quistes esofágicos tenían una pared eosinofílica de la que se desprendían estructuras trabeculares (septos internos) que rodean células parasitarias, y en las zonas adyacentes se observó una esofagitis linfocítica leve.

Al realizar IHQ en éstos tejidos se observó un inmunomarcaje inespecífico por lo que no resultó concluyente.

La PCR para protozoos resultó positiva y posteriormente, con la PCR específica para *Sarcocystis* sp se logró amplificar ADN de las muestras analizadas.

La posterior secuenciación del ADN amplificado resultó tener 100% de identidad con la secuencia de *S. gigantea* publicada (KC209733).

Discusión

Se sospecha que en este caso la sarcocystosis pudo haber tenido un efecto sinérgico sobre la pérdida de condición corporal junto a la infestación hidatídica afectando la capacidad deglutoria. Esto, sumado al avanzado estado gestacional, con los mayores requerimientos nutricionales y menor capacidad ruminal que ello implica, habrían desencadenado la muerte del animal. *S. gigantea* es un protozoo formador de quistes intracelulares de hasta 15 × 5 mm en la serosa del esófago, laringe y región posterior de la lengua. Suelen ser

hallazgos incidentales de necropsia, sin implicancias clínicas. Tampoco generan graves pérdidas económicas por decomiso en mataderos, ya que los tejidos afectados no tienen un valor comercial importante.

Conclusiones

No se han encontrado reportes locales sobre la frecuencia de estos hallazgos, por lo que sería interesante evaluar la infestación en majadas regionales o en establecimientos de faena de esta especie.

Foto 1. *Sarcocystis* macroscópicos observados en esófago durante la necropsia de la oveja.



Foto 2. Parte de un quiste en la capa muscular del esófago (e): observar detalle de la pared del quiste (w), septos internos (s), metrocitos (m) y bradizoítos (b) dentro del quiste evaluado bajo microscopía óptica (H&E; 400×).



Foto 3. PCR para protozoos que se caracteriza por una alta sensibilidad pero baja especificidad.

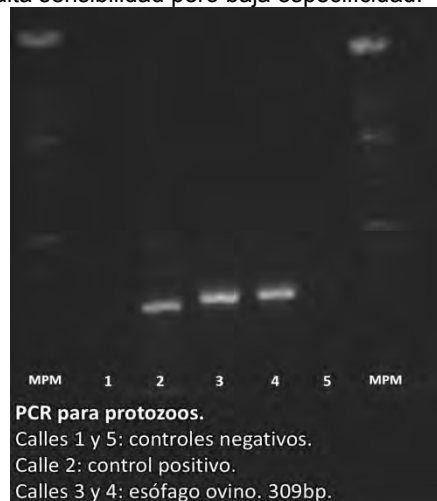


Foto 4. PCR con cebadores y sondas más específicos de género *Sarcocystis* spp.



Bibliografía

- Heckerth, A. y Tenter, A. 2007. Sarcocystosis. In: Ortega-Mora LM, Gottstein B, Conraths FJ, Buxton D (Ed.) Protozoal abortion in farm ruminants: guidelines for diagnosis and control. CAB International, Wallingford, UK, pp. 172-232.
- Lindsay, D.; Blagburn, B.; Braund, K. (1995) *Sarcocystis* spp. and Sarcocystosis. BAM 5: 249-254.
- Munday, B. y Obendorf, D. 1984. Morphology of *Sarcocystis gigantea* in experimentally-infected sheep. Vet Par 16:193-199.
- Robles, C. 2007. South America: Patagonia. In: Aitken, I.D. (Ed.), Diseases of Sheep, 4th ed. Blackwell Science, Oxford, UK, pp. 524-537

MORTALIDAD POR COCCIDIOSIS AGUDA EN CABRITOS ANGORA DE RÍO NEGRO, ARGENTINA

Martínez, A.; Larroza, M.; Cabrera, R.; Subiabre, M; Robles, C.
INTA Bariloche

Introducción

La producción animal en la ecoregión del Secano de Río Negro se caracteriza por la cría extensiva de pequeños rumiantes. Sin embargo, en los últimos años debido a un período prolongado de sequía, depredación y caída de cenizas por erupción del volcán Puyehue, se evidenció una caída abrupta de las existencias en caprinos y ovinos. Pequeños productores que pudieron mantener sus hatos y majadas han tenido que modificar el manejo derivando en la semi-intensificación de la producción, implementando prácticas como suplementación estratégica, uso de cobertizo y encierre nocturno entre otras. Debido a esta modificación en el manejo, es de esperar un aumento en la frecuencia de trastornos sanitarios íntimamente relacionados con el manejo y nutrición, siendo estos de índole infecciosa, parasitaria y/o metabólica. A continuación se describe un brote de coccidiosis aguda en cabritos sin sintomatología clásica, proveniente de un hato criado bajo un sistema semi-intensivo perteneciente a un productor minifundista del departamento de Pilcaniyeu, provincia de Río Negro.

Materiales y Métodos

En Octubre del 2013, en un establecimiento de la provincia de Río Negro se produjo la muerte de tres cabritos Angora de cinco semanas de edad. El manejo del establecimiento consistía en el encierre nocturno de todo el hato compuesto por 14 adultos y 17 crías en un cobertizo de 8 m² con piso de tierra y cerrado por paredes de madera. Por la mañana las madres pastoreaban el potrero contiguo, dejando las crías encerradas en el cobertizo. Por la tarde los cabritos eran soltados para reencontrarse con sus madres y el hato completo era encerrado nuevamente en el cobertizo. El pastoreo se realizaba sobre un pastizal natural sobre base de gramíneas como coirón blanco, y arbustos como neneo, los animales abrevaban agua de un arroyo permanente.

De la anamnesis se desprende que los tres cabritos muertos presentaban anorexia, debilidad general y postración con muerte entre 24 a 36 horas de iniciados los primeros síntomas.

En el momento de la inspección se observó un cabrito en estado agónico que estaba en

decúbito lateral, con extrema debilidad, espuma en la boca, extremo de los miembros hipotérmicos y marcada palidez de las mucosas. El cabrito agónico fue sacrificado y se le realizó la necropsia para su estudio. Del mismo se obtuvo contenido cecal para la observación y cuantificación de ooquistes. La identificación de las especies se realizó mediante caracterización morfológica de los ooquistes esporulados luego del cultivo del contenido cecal. Muestras de hígado, íleon y ciego fueron fijadas en formol bufferado al 10% y procesadas de rutina para estudios histopatológicos.

Resultados

A la necropsia se observó palidez en mucosas y músculo esquelético y abundante reservas grasas subcutánea, perirrenal y epiplónica. A nivel intestinal se evidenció edema y aumento del grosor de la pared en el yeyuno distal e íleon, con presencia de nódulos blanquecinos de 1-2 mm de diámetro tapizando la mucosa con presencia de coágulos de sangre y fibrina; el ciego estaba hemorrágico con contenido cecal negro, oscuro, pastoso y homogéneo y en el colon se encontraron pequeñas boñigas de materia fecal negras y secas (Foto 1).

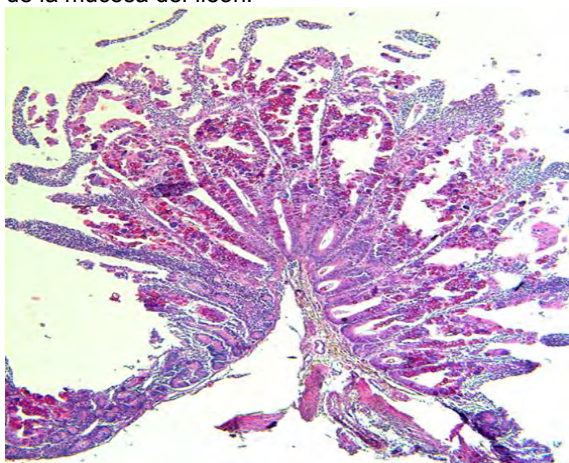
En el examen microscópico del intestino delgado, se observó hiperplasia de las vellosidades del íleon. El epitelio estaba invadido por numerosos esquizontes y gametocitos y sobre la superficie de las vellosidades, en forma libre, se encontraron ooquistes (Foto 2). Estos hallazgos permitieron clasificar la lesión como enteritis hiperplásica necrótica multifocal. Las principales lesiones observadas en ciego fueron una severa hemorragia en submucosa y la necrosis epitelial con desprendimiento de la mucosa, lo que permitió clasificar a la lesión como una tiflitis necro-hemorrágica difusa.

El conteo de OPG arrojó un valor de $13,9 \times 10^5$ ooquistes, evidenciándose dos clases de ooquistes: 1) elipsoidales de $32 \times 22 \mu\text{m}$ de tamaño, con cápsula polar, micrópilo y color de la pared marrón-amarillento clasificados como *Eimeria arloingi* en un 90% del conteo; 2) subesféricos de $24 \times 20 \mu\text{m}$ de tamaño, sin cápsula polar, con micrópilo y color de la pared marrón-verdoso identificados como *Eimeria ninakohlyakimovae* en un 10% del conteo.

Foto 1. Lesiones macroscópicas por coccidiosis. Véase el ciego hemorrágico y el íleon con nódulos blanquecinos en la mucosa.



Foto 2. Vista microscópica de la hiperplasia nodular de la mucosa del íleon.



Discusión

En Argentina la prevalencia de los coccidios en pequeños rumiantes es alta, pudiendo variar según la zona geográfica, el tipo de explotación, la época del año y la categoría del animal. Sin embargo, es escasa la bibliografía respecto a la caracterización de brotes clínicos y mortales en la especie caprina.

Contemplando la muerte de los tres cabritos reportados por el productor, la mortalidad fue del 17,6%. Esta tasa de mortalidad fue mayor comparado con otros reportes a nivel mundial. Se hipotetiza que los altos niveles de OPG observados en el presente brote fueron debidos al hacinamiento que se producía durante el encierre nocturno con una densidad de 4 animales por m², permitiendo así la acumulación de materia fecal que sumado a la falta de limpieza y ventilación, generaron un ambiente contaminado y propicio para la esporulación de ooquistes en el suelo.

La sintomatología clínica de la coccidiosis en pequeños rumiantes se caracteriza por diarrea acuosa verde amarillenta, ocasionalmente acompañada con sangre y/o mucus. La diarrea ocurre cuando las lesiones intestinales son de curso crónico, teniendo el tiempo necesario para que se genere una modificación en la

microflora bacteriana intestinal. Sin embargo, en este brote no se constató la ocurrencia de episodios de diarrea previa a la muerte de los cabritos ni en los congéneres con altas cargas de OPG. Se plantea que la ausencia de diarrea ocurrió por una elevada ingesta de ooquistes esporulados en escaso tiempo, desencadenando así el brote de curso agudo. En el presente brote se han identificado *E. arloingi* y *E. ninakohlyakimovae*, dos de las tres especies que junto con *E. aljevi* son consideradas las de mayor patogenicidad. La enteritis hipertrófica multifocal difusa encontrada en íleon es una lesión característica de la acción patógena de *E. arloingi* y es esporádicamente hallada en frigoríficos sin representar fatalidad. *E. ninakohlyakimovae* es identificada como responsable de las lesiones a nivel del ciego que comprometen la vida del animal. En este brote, si bien se evidenció una predominancia de *E. arloingi* por sobre *E. ninakohlyakimovae*, se postula que las lesiones hemorrágicas severas en el ciego desencadenaron la muerte del animal debido a un shock hipovolémico, en razón de la palidez de las mucosas y de la musculatura esquelética y el contenido hemorrágico del ciego observado a la necropsia.

Conclusiones

Se evidenció el alto impacto que puede alcanzar la coccidiosis en la producción caprina y más aún en sistemas productivos vulnerables donde la muerte de animales genera una fuerte pérdida en la economía de subsistencia.

Para establecer una estrategia de control de esta enfermedad se recomienda tener en cuenta el manejo del hato, la dinámica de la enfermedad en el establecimiento y contemplar la información meteorológica existente en la zona.

Cualquier estrategia utilizada, debe ser acompañada por una correcta higiene del corral, adecuación de la superficie del cobertizo y permitir la salida de los animales a un corral ventilado y soleado, con el objetivo de atenuar la contaminación del ambiente.

Bibliografía

- Jubb KVF, Kennedy PC, Palmer CC. En: Pathology of domestic animals. Ed. Elsevier Science. 1993, pg 300-303.
- Chartier C, Paraud C. Coccidiosis due to *Eimeria* in sheep and goats, a review. Small Rumin Res 2012; 103: 84-92.
- Aumont G, Yvoré P, Esnault A. Experimental coccidiosis in goats. 1. Experimental model. Effects of parasitism on the feeding behaviour and the growth of animals; intestinal lesions. Ann Rech Vet 1984; 15: 476-473.

EVALUACIÓN DE UN TRATAMIENTO METAFILÁTICO PARA COCCIDIOSIS INTESTINAL EN CAPRINOS

Martínez, A.¹; Larroza, M.¹; Cabrera, R.¹; Subiabre, M.²; Robles, C.¹
¹Grupo de Salud Animal ²Agencia de Extensión Bariloche. INTA Bariloche

Introducción

A partir de un brote de coccidiosis en cabritos ocurrido en la provincia de Río Negro, se propuso un tratamiento estratégico contemplando el manejo del establecimiento y la dinámica de la parasitosis. Numerosos estudios han demostrado la eficacia del toltrazuril administrado en la etapa pre-patente de la parasitosis en ovinos, bovinos y porcinos. Sin embargo en caprinos hay escasa información al respecto.

Con el objetivo de evaluar un tratamiento metafilático para la coccidiosis se realizó un ensayo experimental en el establecimiento con antecedentes de la enfermedad.

Materiales y Métodos

Se utilizaron 18 cabritos Angoras recién nacidos, correspondientes al total del hato del establecimiento con antecedentes de la enfermedad. Al momento del parto los cabritos se pesaron y se identificaron con caravana. A la tercera semana de vida se designaron dos grupos homogéneos según peso, sexo y tipo de parto. Al Grupo Tratado se dosificó con una única dosis de toltrazuril 40mg/Kg PV vía oral; al Grupo Control se le suministró 2ml de solución fisiológica como placebo. Los cabritos de ambos grupos se mantuvieron juntos recibiendo el mismo manejo.

Se tomaron muestras de materia fecal y se registró el peso de los animales con frecuencia semanal desde el día del tratamiento (día 0) hasta el 3er mes de vida y luego quincenalmente hasta los 6 meses.

Las muestras de materia fecal fueron procesadas mediante técnica de McMaster modificada para el análisis cuantitativo de ooquistes por gramo (OPG).

A lo largo del ensayo ocurrieron bajas en el número de cabritos debido a que el productor iba faenando los animales de mejor estado corporal para la venta en las fechas festivas de fin de año.

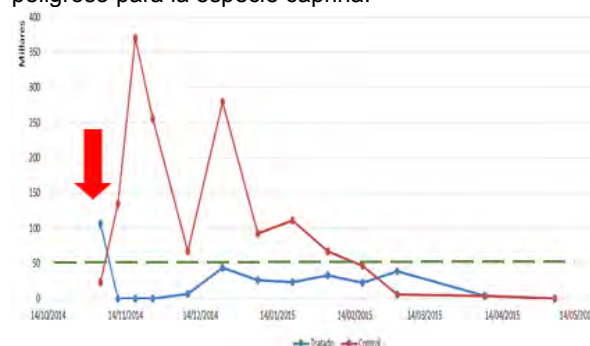
En los animales faenados se tomaron muestras de duodeno, yeyuno, íleon, ciego y colon en formaldehído bufferado al 10% para estudios histopatológicos.

Resultados

-Dinámica de la parasitosis y eficacia del tratamiento.

Los grupos difirieron en la carga inicial de OPG. Como se puede observar en el Gráfico 1, el Grupo Tratado comenzó con un conteo promedio de 100.000 OPG y el Grupo Control tenía en promedio un conteo de 30.000 OPG. Sin embargo, a partir de la fecha del tratamiento se puede distinguir la disminución del conteo de OPG en el Grupo Tratado llegando a niveles de 0 OPG y luego levantando un mínimo el conteo pero sin volver a superar el límite considerado peligroso para la especie caprina de 50.000 OPG. Por otra parte, se puede observar el comportamiento del Grupo Control, el cual presenta dos picos de liberación de ooquistes, el primero que se supera los 350.000 OPG y el segundo (3 semanas después) de 275.000 OPG. Luego de estos dos picos el conteo de ooquistes disminuye, estando por debajo del límite peligroso hasta la finalización del estudio.

Gráfico 1. Evolución del conteo de OPG en ambos grupos experimentales. Grupo Tratado con línea azul. Grupo Control con línea roja. La flecha corresponde al día de tratamiento. La línea verde punteada corresponde al conteo considerado límite peligroso para la especie caprina.



-Ganancia de peso.

Como se observa en la Gráfico 2, la evolución del peso de ambos grupos fue pareja hasta el momento del inicio de la faena de los animales. A partir de esa fecha, se produjo una disminución en la curva de crecimiento del Grupo Tratado con respecto al Grupo Control que mantuvo la curva de crecimiento hasta finalizar el ensayo.

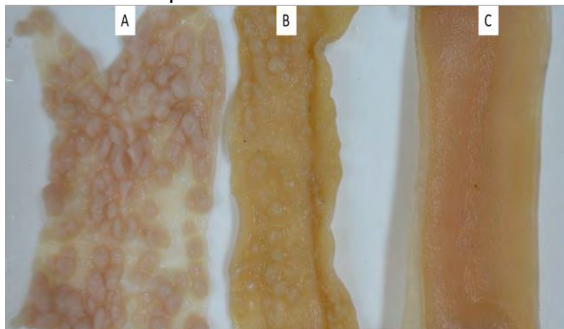
Gráfico 2. Evolución del peso vivo en ambos grupos experimentales. Grupo Tratado con línea azul. Grupo Control con línea roja. La flecha corresponde al día de tratamiento.



-Estudio post-faena.

De los tres animales del Grupo Tratado que se pudieron analizar, en ninguno se pudo apreciar lesiones compatibles con la infestación por *Eimerias spp* en el intestino. En el único animal de Grupo Control que se analizó, se encontraron lesiones nodulares multifocales tapizando la mucosa del íleon (Foto 1). Estas lesiones, si bien eran de menor severidad que las observadas en el intestino del cabrito muerto en el brote del año anterior, estaban distribuidas a lo largo de todo el íleon.

Foto 1. Mucosas de íleon. A) Cabrito muerto en el brote del 2013; B) Cabrito del Grupo Control y C) Cabrito del Grupo Tratado.



Discusión

Para establecer una estrategia de control de esta parasitosis, además de utilizar antiparasitarios, varios autores recomiendan tener en cuenta el manejo del hato y la dinámica de la enfermedad en el establecimiento. Con esa información preliminar y con datos meteorológicos de la zona, como la pluviometría y temperatura, se diseñó la propuesta evaluada en el presente ensayo.

Los resultados demuestran que la misma fue efectiva para disminuir la liberación de ooquistes. Con esto se logró contener la parasitosis mediante al menos dos vías: 1) se disminuyó el riesgo clínico en el animal desde la semana 1 post tratamiento, debido a la baja carga de *Eimeria sp.* en el Grupo Tratado y 2) se redujo en forma considerable la eliminación de ooquistes al medio lo cual permitiría bajar el grado de contaminación/infestación del corral,

ayudando a mantener un ambiente con menor carga parasitaria.

Cabe destacar que si bien se recomendó modificar medidas de manejo tendientes a mejorar el ambiente donde estaban los animales, estas no fueron puestas en práctica por el productor con lo cual el manejo del hato y la limpieza de los corrales se mantuvieron en forma similar al año que ocurrió el brote.

Varios autores han determinado que el tratamiento con toltrazuril mejora la ganancia de peso evaluada en ovinos, bovinos y cerdos. En cuanto a caprinos, los escasos trabajos no determinaron diferencias en este parámetro entre los grupos controles y los tratados. En este estudio sucedió todo lo contrario, se observó una menor curva de crecimiento en el Grupo Tratado con respecto al Grupo Control. Este hecho se podría explicar por el manejo que tuvieron los cabritos, el cual es el común en la zona, cuando los animales llegan a una óptima condición corporal y peso corporal se faenaban para la venta entre mediados y fines de Diciembre.

En correlación los conteos de ooquistes, si bien fueron sobre escasos animales, se corroboró que el tratamiento evita que los parásitos generen lesiones intestinales. Infiriendo así que los animales tratados tendrían una mejor preservación del epitelio intestinal, lo que repercutiría en la capacidad de digestión y absorción de los nutrientes. Debido a que, por cuestiones de manejo no se logró corroborarlo, se sugiere realizar futuros trabajos en condiciones de manejo controladas tendientes a evaluar estos parámetros.

Conclusiones

Para implementar un tratamiento es fundamental conocer el manejo del hato y la dinámica de la enfermedad en el establecimiento.

El toltrazuril a dosis única de 40mg/Kg via oral, reduce drásticamente la carga parasitaria en cabritos, manteniéndose por debajo del límite peligroso hasta después de la edad que el animal es más propenso a padecer la enfermedad clínica.

Bibliografía

- Chartier C; Pellet M y Pors I. 1992.Efect of toltrazuril on oocyst discharge and growth in kids with naturally-acquired coccidial infections. Small Ruminant Research. 8: 171-177
- Chartier C, Paraud C. Coccidiosis due to *Eimeria* in sheep and goats, a review. 2012. Small Rumin Res, 103: 84-92.
- Aumont G, Yvoré P, Esnault A. Experimental coccidiosis in goats. 1. 1984. Experimental model. Effects of parasitism on the feeding behaviour and the growth of animals; intestinal lesions. Ann Rech Vet, 15: 476-473.

CASO DE CENUROSIS (*Coenurus cerebralis*) CLÍNICA CRÓNICA EN OVINOS DE SALTA, ARGENTINA

Cafrune, M.M.¹; Grossberger, G.²; Micheloud, J.F.¹; Aguirre, D.H.¹
¹INTA - IIACS Leales/ EEA Salta; ²Secretaría de Agricultura Familiar, Salta

Introducción

La cenurosis cerebral es una neuroparasitosis producida por el estado larval de la *Taenia multiceps* (Leske, 1780) cuando invade el sistema nervioso central (SNC) de hospedadores intermediarios (HI) como ovinos, caprinos, bovinos, camélidos, bubalinos y equinos. También el hombre es susceptible a esta parasitosis, por lo cual se considera una zoonosis. Los hospedadores definitivos de los estadios adultos de la *T. multiceps* son los cánidos (perros y zorros). La infestación de los HI se produce al ingerir pasturas o agua que contengan heces de cánidos contaminadas con el parásito. La migración de las larvas oncosfera hacia el SNC de los HI ocurre por vía hematogena. Cuando ellas (*Coenurus cerebralis*, Rudolphi, 1803) alcanzan al SNC y se alojan en él, originan signos neurológicos ostensibles ("torneo") y desenlace mortal en la mayoría de los casos. La cenurosis tiene ocurrencia mundial, pero la casuística registrada en nuestro país es escasa. Un par de informes refieren su presencia en ovinos y bovinos de la región noroeste y en caprinos de la región centro-oeste de la Argentina. Este trabajo describe un caso de cenurosis clínica crónica registrado en un ovino de una majada de Salta.

Materiales y Métodos

El caso se presentó en un rebaño mixto de rumiantes menores perteneciente a un pequeño productor del pueblo originario Tastil, ubicado en la localidad de Las Cuevas (24°19'58"S, 66°03'00"W) en el área de la Quebrada del Toro, Dpto. Rosario de Lerma, Salta. La majada se integraba por cerca de un centenar de ovinos y caprinos, con antecedentes de casos clínicos similares al aquí descrito (Foto 1). La familia del propietario contaba además con cinco perros. En diciembre de 2013 un ovino macho de raza Criolla de aproximadamente un año de edad mostró incoordinación, deambular en círculos, dificultad para la estación, parálisis flácida manifiesta, debilidad y anorexia seguida de muerte. Se procedió a su necropsia, extrayéndose la masa encefálica que fue remitida al laboratorio para su examen parasitológico y estudio histopatológico. Las muestras para histopatología se procesaron por métodos usuales y

se colorearon con Hematoxilina-Eosina para ser examinadas al microscopio.

Resultados

El cerebro del ovino afectado exhibía siete quistes de *C. cerebralis* (Fotos 2 a 4), tres en cada hemisferio y el restante ubicado entre ambos hemisferios cerebrales y el cerebelo, los cuales contenían numerosos escólex del cestode. Se observaron además cuatro lesiones compatibles con cenuros involucionados. La histopatología evidenció múltiples cavidades de tamaño diverso sustituyendo al tejido nervioso, con escasa o nula respuesta inflamatoria alrededor de las lesiones. Esas cavidades tendían a la coalescencia y en algunos puntos se visualizaba la formación de agregados histiocitarios con presencia de células gigantes de cuerpo extraño. No se observó proliferación de tejido conjuntivo.

Foto 1. Rebaño afectado por el caso.



Foto 2a. Quistes de *C. cerebralis* en cerebro ovino.



Foto 2b. Quistes de *C. cerebralis* en cerebro ovino

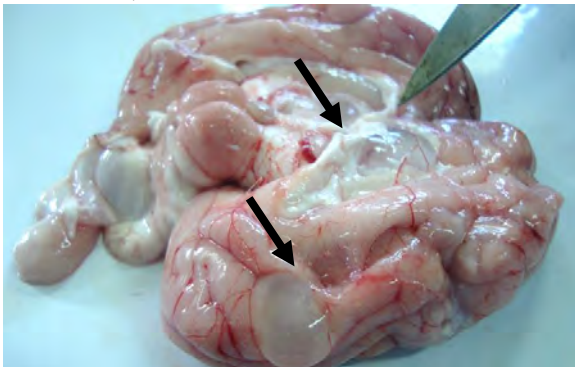


Foto 3. Detalle de lesiones por *C. cerebralis* en cerebro ovino.

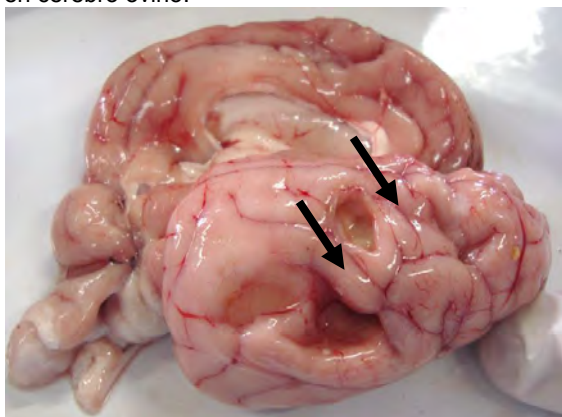
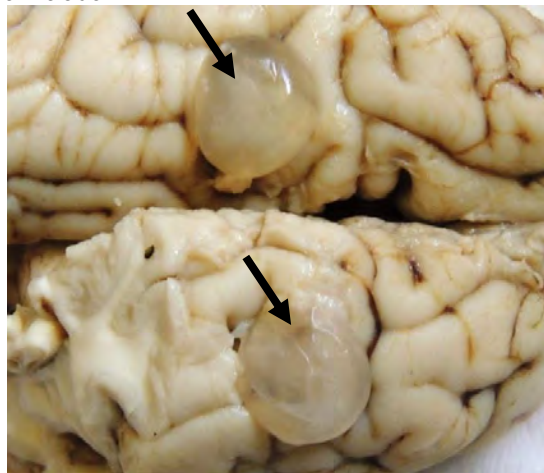


Foto 4. Quistes de *C. cerebralis* en cerebro ovino formolado.



Discusión

La presencia de numerosos quistes de *C. cerebralis* en la masa encefálica y los daños tisulares resultantes permitieron confirmar que el cuadro clínico se debió a una cenurosis crónica. La repetida ocurrencia de estos cuadros en la majada sería indicativa de una probable endemia de cenurosis favorecida, entre otros factores, por la abundancia de perros en convivencia con el rebaño.

No existe tratamiento farmacológico efectivo para eliminar al parásito una vez instalado en el SNC del HI. La mejor opción para el control de esta parasitosis es la profilaxis evitando que el ganado tome contacto con el parásito. La cenurosis ovina está poco documentada en la Argentina pese a representar una afección importante en veterinaria pero también en medicina humana, dado su carácter de zoonosis con clínica y patología similares a las del ganado. Países vecinos del Cono Sur también registran su ocurrencia. En Brasil se informaron 23 casos de cenurosis en un período de 30 años, tres en bovinos y los otros 20 en ovinos, constituyendo para éstos la tercera noxa parasitaria de mayor incidencia. Por otra parte, en Uruguay se reconoce la disminución en la incidencia de cenurosis ovina luego de implementar una campaña de desparasitación obligatoria de los caninos con praziquantel para controlar la hidatidosis. El presente caso actualiza la importancia clínica de la cenurosis para la ganadería ovina a la vez que alerta sobre el riesgo para la salud pública en su condición de zoonosis parasitaria. Estos aspectos justifican la realización de estudios adicionales de corte epidemiológico que permitan reconocer los factores de riesgo asociados a la aparición de esta parasitosis, como insumo para futuras campañas de control.

Bibliografía

- Soulsby E J L. 1982. Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos. 7ª. Ed. Nueva Editorial Interamericana, México DF, México, 823 pp.
- Kühne, G.I. 1986. Parásitos diagnosticados en el decenio 1976-1985 en la Unidad Regional de Investigación en Sanidad Animal del Noroeste Argentino. I. Helmintos y protozoarios. Rev. Inv. Agropec. (INTA) 21 (1): 73-79.
- Rossanigo, C.E. y Sager, R.L. 2002. Casuística diagnóstica del ganado caprino en el centro-oeste de la Argentina. Res. 14ª Reun. AAVLD, Villa Gral. Belgrano, Córdoba, E-15.
- Montiel Ferreira, J.L., Leal Ladeira, S.R., Lopes Ruas, J.L., Pereira Soares, M. e Schild, A.L. 2008. Principais diagnósticos realizados nas diversas espécies domésticas entre 1978 e 2007. Bol. Lab. Reg. Diag. N° 28, Fac. Vet., Univ. Fed. Pelotas, Brasil, p. 49-73.
- DILAVE "Miguel C. Rubino". 2011. Cenurosis cerebral en oveja. Arch. Vet. del Este, MGAP, Uruguay, Bol. N° 8 Año 3 (1): 1-15.

TRATAMIENTO CON IVERMECTINA Y LEVAMISOL EN OVINOS INFESTADOS CON NEMATODES: EFICACIA CLÍNICA Y EFECTO EN LA PRODUCCIÓN

Luque, S.¹; Entrocasso, C.²; Louge, E.²; Schultheiss, A.³; LLoberas, M.²
¹UNMdP-EEA INTA Balcarce; ²EEA INTA Balcarce; ³ENSAT, Toulouse, Francia

Introducción

En la producción ovina de nuestro país el control de los parásitos gastrointestinales se basa, desde hace décadas, principalmente en el uso de fármacos antihelmínticos de diferentes grupos químicos. Uno de estos grupos es el de las Lactonas macrocíclicas (LMs) entre los cuales están las avermectinas, donde la más utilizada es la ivermectina (IVM) y el grupo de los imidazotiazoles como el levamisol (LVM).

El uso indiscriminado y en forma continua de estos fármacos ha llevado al desarrollo de resistencia a los antihelmínticos, principalmente en los sistemas pastoriles. Este fenómeno es un motivo de preocupación creciente no solo en nuestro país sino también en todo el mundo. Existen numerosos trabajos que demuestran el estado de la resistencia en diferentes regiones de nuestro país. En ovinos, y desde el punto de vista de las especies de nematodos gastrointestinales más resistentes, destacan los del género *Haemonchus* para los que se han confirmado casos de resistencia a los diferentes grupos químicos de antihelmínticos. La resistencia de *Haemonchus* sp. a los antiparasitarios antihelmínticos es especialmente problemática y preocupante, porque se trata precisamente del nematodo gastrointestinal más dañino en ovinos que puede llevar a la muerte de corderos en buen estado, en pocos días. Tras *Haemonchus* sp. siguen los helmintos de los géneros *Teladorsagia* y *Trichostrongylus*, para los que hay casos confirmados de resistencia a varios grupos químicos. Los principales fármacos involucrados en la resistencia son de la familia de las Lactonas macrocíclicas (IVM) y de la familia de los bencimidazoles (BZM), no encontrando hasta el momento resistencia a los imidazotiazoles (LVM). En base a estos antecedentes los objetivos del presente estudio fueron: evaluar la eficacia clínica de dos tratamientos antihelmínticos en ovinos naturalmente infestados con nematodos gastrointestinales resistentes a IVM y cuantificar el impacto productivo de implementar ambos tratamientos.

Materiales y Métodos

El estudio se desarrolló durante 60 días (verano-otoño) en el campo experimental de la EEA Balcarce (Reserva 8), sudeste de la provincia de Buenos Aires, que cuenta con

antecedentes probados de resistencia a las avermectinas. El experimento se realizó en ese momento del año, por ser la estación donde el principal parásito y que más pérdidas produce, el *H. contortus* predomina.

Se utilizaron 20 corderos de destete de 15-20 kg, divididos en dos grupos de 10 corderos cada uno. Los grupos se formaron con animales de edad, peso y estado homogéneo y fueron seleccionados al azar. El Grupo 1 fue tratado con ivermectina a razón de 0,2 mg/kg y el Grupo 2 fue tratado con levamisol a razón de 8 mg/kg. Los animales fueron mantenidos en el mismo potrero, compuesto por una pastura polifítica de más de 10 años, por lo que la oferta forrajera fue la misma para ambos grupos, no existiendo diferencias nutricionales entre ellos. Durante el periodo de estudio se registró en forma semanal el peso vivo, mediante balanza electrónica, y se colectaron directamente de la ampolla rectal muestras individuales de materia fecal para evaluar la evolución de la cuenta de huevos por gramo (HPG). Además, en cada grupo se realizó el coprocultivo a partir de un pool de las muestras de materia fecal, para identificar las especies parasitarias intervinientes, en cada uno de los muestreos. A los 14 días post tratamiento se realizó un test de reducción del conteo de huevos (TRCH) según los lineamientos de la World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) para evaluar la eficacia clínica. El análisis estadístico se llevó a cabo por ANOVA y por métodos no paramétricos.

Foto 1. Potrero experimental e la EEA Balcarce (Reserva 8).



Resultados

No se encontraron diferencias significativas en el valor promedio del recuento semanal de HPG entre ambos grupos, en ningún momento del ensayo. Los valores promedio de HPG previo al tratamiento fueron de 7147 y 6487 para el Grupo 1 y 2 respectivamente. Los valores promedio a los 14 días post tratamiento fueron de 2833 y 687 respectivamente. La eficacia clínica medida por el TRCH resultó en 58% para el Grupo 1 (IVM) y en 87% para el grupo 2 (LVM). *H. contortus* fue la especie predominante en los coprocultivos del Grupo 1 (52%), mientras que *T. circumcincta* lo fue para el Grupo 2 (40%) (Tabla 1). La eficacia clínica para *H. contortus* fue de 15 % para el Grupo 1 y del 100 % para el Grupo 2. No hubo diferencias significativas en las ganancias de peso de ambos grupos (Grupo1: 0,2 kg y Grupo 2: 0,34 kg).

Tabla 1. Eficacia clínica expresada como porcentaje de reducción del HPG y especie predominante en el coprocultivo a los 14 días post tratamiento.

	% TRCH	Especie predominante
Grupo 1 (IVM)	58	<i>H. contortus</i>
Grupo 2 (LVM)	87	<i>T. circumcincta</i>

Discusión

La menor eficacia clínica del Grupo 1 puede atribuirse a la resistencia de *H. contortus* frente a ivermectina. Este hecho ya estaba probado en el establecimiento en años anteriores y que es cada vez más frecuente en nuestro país y en el mundo. Esta resistencia probablemente esta basada en la utilización de IVM para los tratamientos antihelmínticos de rutina en el establecimiento, sin rotación de principios y sin un análisis previo por HPG. En cambio, el aumento de *T. circumcincta* en el Grupo 2, aún bajo condiciones climáticas adversas para esta especie, ya que prevalece en la estación fría, podría deberse a la escasa sensibilidad de sus estadios larvales frente al levamisol, lo que genera por un lado falsos valores de eficacia cuando se evalúa a los 14-15 días post tratamiento y por otro lado el género sobreviviente desarrolla en ausencia de competencia ocupando el nicho de *H. contortus* (Grimshaw, *et al.*, 1996).

El predominio de *H. contortus* en el Grupo 1 y el de *T. circumcincta* en el Grupo 2, ambas especies patógenas de ovinos, explicaría la

ausencia de diferencias en la ganancia diaria de peso vivo. Debería evaluarse otros parámetros clínicos complementarios al HPG, como hematocrito o FAMACHA, para poder determinar las pérdidas productivas de estas parasitosis y los momentos apropiados para el tratamiento antiparasitario.

Conclusión

Los resultados obtenidos demuestran que es necesario complementar los monitoreos de HPG del control parasitario con los coprocultivos correspondientes no solo para conocer los géneros resistentes sino también para poder elegir el fármaco apropiado para los géneros parasitarios presentes en cada momento del año.

Bibliografía

- Coles,GC .Bauer,C Borgsteede F.H.M., Geerts S.,Klei, T.R Taylor M.A. y Waller P.J. 1992. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology*, 44 :55-44.
- Fiel, C.A., Anziani, O., Suárez, V., Vázquez, R., Eddi, C., Romero, J., Caracostantógolo, J., Saumell, C., Mejía, M., Costa, J., Steffan, P. 2001. Resistencia antihelmíntica en bovinos: causas, diagnóstico y profilaxis. *Vet. Arg.* 18: 21-33.
- Grimshaw, W.; Hong, C.& Hunt, K.1996. Potential for misinterpretation of the faecal egg count reduction test for levamisole resistance in gastrointestinal nematode of sheep. *Vet. Parasitol.* 62: 267-273.
- Nari, A. 2003. Control integrado de parásitos, En: FAO Producción y Sanidad Animal (Ed.) Resistencia a los Antiparasitarios: Estado actual con énfasis en América Latina. Roma, 18-32.
- Steffan, P.E., Fiel, C.A., Ferreyra, D.A. 2012. Endoparasitosis más frecuentes de los rumiantes en sistemas pastoriles de producción. Aspectos básicos de consulta rápida. 112p.
- Sangster, N.C. 2001. Managing parasiticide resistance. *Vet. Parasitol.* 98: 89-109.

EVALUACIÓN FARMACO-PARASITOLÓGICA DE TRES LACTONAS MACROCÍCLICAS EN NEMATODES RESISTENTES DE OVINOS

Lloberas, M.¹; Alvarez, L.²; Entrocasso, C.¹; Ballent, M.²; Borda, B.¹; Virkel, G.²; Maté, L.²; Lanusse, C.²; Lifschitz, A.²

¹Lab. Parasitología INTA Balcarce, Argentina; ²Lab. Farmacología, CIVETAN (CONICET), FCV Tandil

Introducción

Las lactonas macrocíclicas (LM) son fármacos antihelmínticos utilizadas ampliamente para el control de las parasitosis gastrointestinales en rumiantes. Existen evidencias de una creciente resistencia luego su uso masivo en los últimos años. Si bien las LM comparten el mecanismo de acción, se han observado algunas diferencias en la eficacia contra nematodos resistentes. Las bases farmacológicas de estas diferencias deben ser evaluadas y probablemente se deban a diferencias farmacodinámicas entre las avermectinas y milbemicinas. El objetivo del trabajo fue estudiar la relación entre la eficacia clínica de moxidectin (MXD), abamectina (ABM) e ivermectina (IVM) en corderos naturalmente infestados con parásitos resistentes y las concentraciones de las mismas en tejidos de localización parasitaria y en parásitos blanco como *Haemonchus contortus*. Adicionalmente, se estableció el patrón de expresión del transportador glicoproteína-P2 (gp-P2) en *Haemonchus contortus* recuperados de los corderos tratados con cada LM.

Materiales y Métodos

Se utilizaron 60 corderos Romney Marsh (20-30 kg) naturalmente infestados con nematodos resistentes a IVM (HPG promedio = 4071). Se asignaron en forma aleatoria en 4 grupos experimentales: Grupo control: Sin tratamiento y 3 Grupos MXD, ABM e IVM tratados con soluciones orales por la vía oral a 0,2 mg/kg. En forma simultánea y estandarizada se realizaron estudios farmacológicos y parasitológicos. Para los estudios farmacológicos se tomaron muestras de sangre entre los días 0-14 post-tratamiento y muestras de tejidos de localización parasitaria y de *H. contortus* a los 0,5, 1 y 2 días post tratamiento, para realizar una cinética de concentración. Para el estudio parasitológico se tomaron muestras de materia fecal al día 0 y 14 post-tratamiento, para realizar un Test de reducción de la cuenta de huevos (TRCH) y coprocultivo de cada grupo. También se realizó la necropsia parasitológica, para el Test de eficacia controlada (TEC) con recuperación de parásitos adultos del tracto gastrointestinal a los 15 días post tratamiento. Los parásitos adultos se contaron e identificaron por género. Para estas pruebas se siguieron los

lineamientos de la WAAVP (World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology).

Para la cuantificación de los fármacos a partir de las muestras de plasma, tejidos y parásitos, se realizó la extracción en fase líquida y sólida, con posterior derivatización y análisis por HPLC. El análisis de los datos obtenidos se realizó por el programa PK solution y se realizó un ANOVA para establecer las diferencias estadísticas.

A partir de los especímenes adultos de *H. contortus* obtenidos en las necropsias se estudió la expresión de gp-P antes y después del tratamiento con las diferentes LMs y a diferentes tiempos con el fin de establecer una cinética de expresión, mediante PCR en tiempo real.

Resultados

La disposición plasmática, tal como se observa en el Gráfico 1, es similar para las tres LMs evaluadas, no obstante MXD mostró tener una mayor persistencia en el plasma comparada con las avermectinas. Al evaluar la concentración de cada fármaco en los tejidos de localización parasitaria, el contenido abomasal mostró una mayor concentración con respecto a las mucosas y al plasma (Gráfico 2). Dichas diferencias fueron más marcadas las 12 horas post tratamiento, principalmente para MXD. En el Gráfico 3, se observa una cinética de la concentración de fármacos en *H. contortus*, donde dicha concentración es similar para las tres LMs en el tiempo, salvo MXD que es estadísticamente menor a los 2 días post tratamiento. El TRCH mostró que MXD obtuvo una eficacia clínica mayor (87%) mientras que la eficacia clínica para ABM e IVM fue del 0% para ambas, con diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$) solo para MXD con respecto al control. El TEC, la eficacia general fue de 84,5% para IVM, 90,2 % para ABM y 98,0 % para MXD, sin embargo, *H. contortus* mostro ser marcadamente resistente a estos fármacos con eficacias 20,1% para IVM, 39,7% para ABM y 89,6% para MXD. Para el resto de los parásitos abomasaes e intestinales la eficacia fue superior al 90 %. La expresión de la gp-P2 en los *H. contortus* resistentes recuperados a las 12 hs, 1 día y 2 días post tratamiento demuestran que la mayor expresión se observó a las 12 hs y que MXD

fue estadísticamente mayor que las avermectinas.

Gráfico 1. Concentraciones plasmáticas promedio (\pm DE) de MXD, ABM e IVM obtenidas luego de su administración oral (0,2 mg/kg) a corderos infestados con nematodos resistentes.

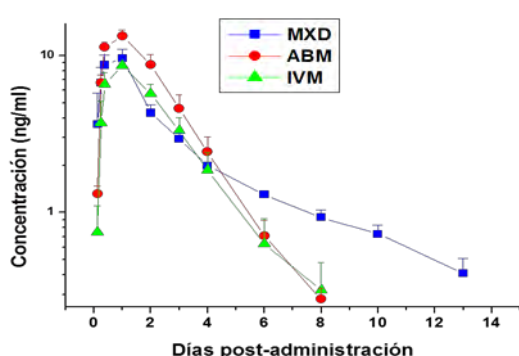


Gráfico 2. Concentraciones obtenidas para MXD, ABM e IVM en plasma y en tejidos de localización parasitaria (mucosa y contenido abomasal) tras su administración oral (0,2 mg/kg) a corderos infestados con nematodos resistentes. (*) Valores estadísticamente diferentes a los obtenidos en plasma ($p \leq 0,05$).

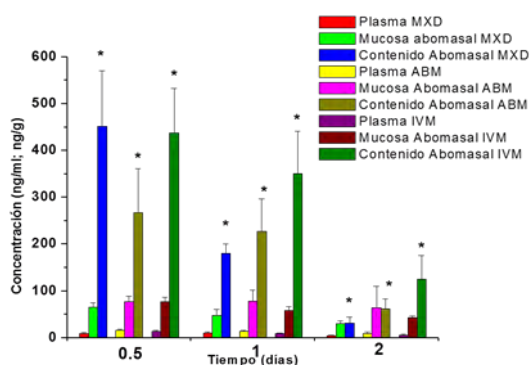


Gráfico 3. Concentraciones promedio (\pm DE) de MXD, ABM e IVM obtenidas en *H. contortus* tras su administración oral (0,2 mg/kg) a corderos infestados con nematodos resistentes. (*) Valores estadísticamente diferentes a los obtenidos para IVM y ABM. ($P < 0,05$).

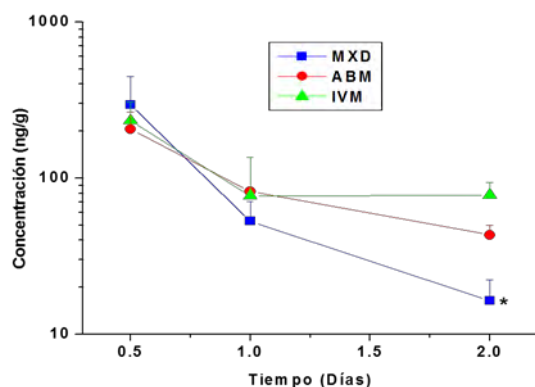
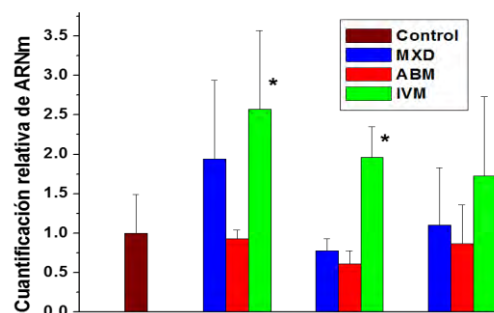


Gráfico 4. Expresión de glicoproteína-P2 (gp-P2) de *H. contortus* resistente recuperados de ovinos controles y tratados con MXD, ABM e IVM por vía oral (0,2 mg/kg). (*) Valores estadísticamente diferentes a los obtenidos en *H. contortus* controles ($p \leq 0,05$).



Discusión

Tal lo observado en resultados previos, MXD mostró una mayor persistencia de concentraciones en plasma comparado a ABM e IVM. Tras la administración enteral de las LMs, las concentraciones de droga en los sitios de localización parasitaria (mucosas y contenidos gastrointestinales) fueron significativamente superiores a las obtenidas en el plasma. Las concentraciones de droga alcanzadas en *H. contortus* reflejan a las obtenidas en el contenido abomasal. A los 2 días post-tratamiento las concentraciones de MXD en los parásitos fueron significativamente menores a las observadas para ABM e IVM. A pesar de las menores concentraciones obtenidas en los parásitos, la eficacia de MXD contra *H. contortus* fue superior a la obtenidas tras el tratamiento con las avermectinas. Luego del tratamiento con IVM, se produjo un aumento significativo de la expresión de glicoproteína-P en *H. contortus*.

Conclusión

Las características diferenciales en la farmacocinética y la farmacodinamia entre las LMs deben seguir siendo estudiadas para poder optimizar su uso ante la aparición de cepas resistentes.

EFICACIA COMPARATIVA DE IVERMECTINA, ABAMECTINA Y MOXIDECTINA CONTRA NEMATODOS RESISTENTES EN CORDEROS

Lloberas, M.¹; Entrocasso, C.¹; Alvarez, L.^{2,3}; Borda, B.¹; Virkel, G.^{2,3}; Lanusse, C.^{2,3}; Lifschitz, A.^{2,3}
¹INTA EEA Balcarce; ²Lab. Farmacología FCV, UNCPBA, Tandil; ³CONICET

Introducción

Las lactonas macrocíclicas (LMs) son un grupo de fármacos ampliamente utilizados en el control de parásitos en rumiantes. Dentro de este grupo, ivermectina es la más difundida por su utilización en diferentes especies animales, existiendo un número importante de estudios farmacocinéticos con este fármaco. La resistencia de algunos helmintos nematodos gastrointestinales del ganado a la ivermectina y después a otros endectocidas se extendió ya en los años 90 del siglo pasado, sobre todo en ovinos. En estudios realizados previamente, la utilización de las LMs por la vía oral en ovinos y caprinos demostró tener una mejor eficacia frente a nematodos resistentes comparado con la vía SC (Gopal *et al.*, 2001). Además, se reportaron diferentes patrones de eficacia para ivermectina (IVM), abamectina (ABM) y moxidectina (MXD) en ovinos infestados con nematodos gastrointestinales resistentes (Barnes *et al.*, 2001; Alka *et al.*, 2004). Aunque estos compuestos son estructuralmente semejantes y presentan el mismo mecanismo de acción, se han observado algunas diferencias en la eficacia contra los nematodos resistentes, particularmente después de su administración oral en ovinos infestados. En base a estos antecedentes se planteó como objetivo de este trabajo comparar la eficacia de IVM, ABM y MXD contra nematodos resistentes a IVM después de su administración intraruminal a corderos infestados naturalmente con parásitos gastrointestinales.

Materiales y Métodos

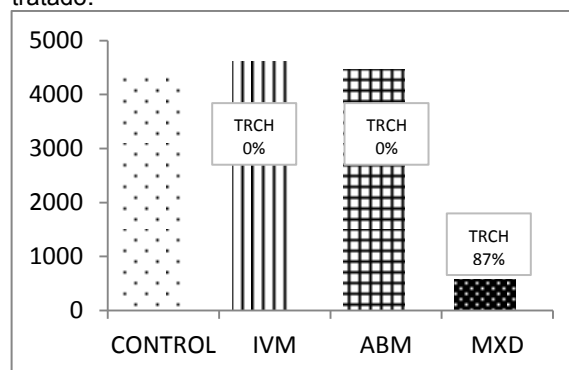
Se utilizaron veinticuatro (24) corderos infectados naturalmente con nematodos gastrointestinales resistentes a IVM (cepa R8). Se eligieron corderos de peso y HPG homogéneo. Los animales se asignaron en forma aleatoria a cuatro (4) grupos experimentales (n = 6), un grupo control no tratado y 3 grupos tratados por vía intraruminal a razón de 0,2 mg / kg con IVM, ABM o MXD. Se realizó el Test de reducción del conteo de huevos (TRCH) para obtener la eficacia clínica de cada uno de los fármacos. Para ello se extrajeron muestras de materia fecal, directamente del recto de los corderos, para el conteo de huevos de parásitos gastrointestinales (HPG) a los 0, 6, 9 y 15 días después del tratamiento. Se realizó el

coprocultivo para determinar los géneros intervinientes a partir de un pool de materia fecal de cada grupo y en cada muestreo. Para el cálculo de la Eficacia de cada uno de los fármacos se realizó un Test de eficacia controlada (TEC), para ello se efectuó el examen post-mortem al día 15 después del tratamiento y se recuperaron los nematodos gastrointestinales adultos de cada órgano. Se llevó a cabo el conteo e identificación de géneros (Niec, 1968). Los resultados obtenidos en cada prueba (TRCH y TEC) se calcularon según los lineamientos de la WAAVP. La comparación estadística se realizó por métodos no paramétricos (Kruskal Wallis).

Resultados

Los resultados obtenidos demuestran altos niveles de resistencia a las LMs en la cepa R8. El TRCH mostró una falla completa en el porcentaje de reducción de huevos de IVM y ABM (0%), mientras la reducción de huevos de MXD alcanzó un 87% (Gráfico 1).

Gráfico 1. HPG A los 15 días post tratamiento, valores del porcentaje de reducción para cada grupo tratado.



La eficacia total medida por el TEC, mostró diferencias significativas ($p \leq 0.001$) entre las diferentes LMs, 84,8% (IVM), 90,2% (ABM) y 98,0% (MXD). *Haemonchus contortus* fue la especie que demostró ser siempre resistente. En esta especie la eficacia fue de 20 % para IVM, 39 % para ABM y 89,6 % para MXD (Tabla 1).

La eficacia frente a los nematodos intestinales fue mayor al 98 % en todas las especies presentes (Tabla 2) con una eficacia del 99,5 % para IVM, 99,9 % para ABM y 100 % para MXD.

Tabla 1. Media geométrica de nematodos adultos abomasales obtenidos a los 15 días post tratamiento. Letras diferentes presentan diferencia significativa ($p \leq 0,05$)

	<i>H.contortus</i>	<i>Teladorsagia</i>	<i>T. axei</i>
CONTROL	1275 ^a	1707 ^a	116 ^a
IVM	1020 ^a	5 ^b	0 ^b
ABM	768 ^{ab}	0 ^b	0 ^b
MXD	130 ^b	0 ^b	0 ^b

Tabla 2. Media geométrica de nematodos adultos del intestino delgado obtenidos al día 15 post tratamiento. Letras diferentes presentan diferencia significativa ($p \leq 0,05$)

	<i>T. colubriformis</i>	<i>Cooperia spp.</i>	<i>Nematodirus spp.</i>
CONTROL	963 ^a	171 ^a	958 ^a
IVM	6 ^{ab}	3 ^{ab}	5 ^b
ABM	0 ^b	0 ^b	2 ^b
MXD	0 ^b	0 ^b	0 ^b

Discusión

Las LM comparten algunas propiedades fisicoquímicas generales; pequeñas diferencias en la estructura química entre avermectinas (IVM y ABM) y milbemicinas (MXD) o aun dentro de las avermectinas determinan cambios en el comportamiento farmacocinético, lo cual repercute sobre la eficacia y la persistencia antiparasitaria de las mismas (Lanusse *et al.*, 2013).

Existen evidencias previas que sugieren que IVM, ABM y MXD comparten su mecanismo de acción uniéndose a un receptor de alta afinidad, lo que provoca un incremento en la permeabilidad de los iones Cl⁻, con el consiguiente desprendimiento del parásito por una parálisis flácida. Y también existen evidencias que comparten sus mecanismos de resistencia. Generalmente la resistencia a una droga dentro de una clase de antihelmínticos confiere resistencia a toda la clase, este fenómeno es denominado resistencia lateral. Algún grado de resistencia lateral existe y fue demostrada previamente por algunos autores. No obstante, en este trabajo, a la dosis terapéutica recomendada para rumiantes, MXD fue más efectiva respecto a las AVM bajo estudio. Estos resultados pueden deberse a que los mecanismos de resistencia no son exactamente idénticos para las diferentes LMs, y que frente a determinados géneros MXD puede presentar una mayor potencia relativa que la IVM (Lanusse *et al.*, 2013).

Existen numerosos antecedentes de que esta mayor eficacia puede ser solo de carácter temporal y que está supeditada a la selección de genes adicionales de resistencia. En este sentido y teniendo en cuenta la frecuencia de la resistencia a IVM, la resistencia a MXD es cada

vez más frecuente en diferentes lugares del mundo y en nuestro país.

En el presente trabajo MXD conserva elevados valores de eficacia, aun cuando existe una marcada resistencia a ABM e IVM, este concepto es coincidente a los expuestos por varios autores, entre ellos Kaplan *et al.* (2007) y Anziani *et al.* (2008).

Conclusión

La ventaja de la utilización de la vía de administración oral (IR) comparado con la vía parenteral y los patrones de eficacia diferencial observados entre las diferentes LMs deberían ser considerados para optimizar el control de los nematodos gastrointestinales en estadios tempranos del desarrollo de la resistencia antihelmíntica, antes de que ocurra una completa falla terapéutica. Por otro lado, la mayor potencia relativa de MXD, puede ser utilizada en forma estratégica en el planteo de programas de control parasitario, principalmente cuando la resistencia a otras LMs está presente.

Bibliografía

- Alka K, Gopal RM., Sandhu KS., Sidhu PK. 2004. Efficacy of abamectin against ivermectin-resistant strain of *Trichostrongylus colubriformis* in sheep. *Vet. Parasitol.*, 121, 277-83.
- Gopal RM., West DM., Pomroy WE. 2001. The difference in efficacy of ivermectin oral, moxidectin oral and moxidectin injectable formulations against an ivermectin-resistant strain of *Trichostrongylus colubriformis* in sheep. *N Z Vet J.*, 49, 133-137.
- Lanusse, C.; Álvarez, L.; Lifschitz, A.; Suárez, G. 2013. Bases farmacológicas de la terapéutica antihelmíntica. En: *Enfermedades Parasitarias de Importancia Clínica y Productiva en Rumiantes*. Fiel, C. y Nari A. Editorial Hemisferio Sur, SRL (Uruguay), pp 223-53.
- Kaplan, R.M., Vidyashankar, A.N., Howell, S.B., Neiss, J.M., Williamson, L.H., Terrill, T.H. 2007. A novel approach for combining the use of in vitro and in vivo data to measure and detect emerging moxidectin resistance in gastrointestinal nematodes of goats. *International Journal for Parasitology*, 37 (7): 795–804.
- Anziani, O.S., Caffè, G., Aguilar, S., Cervilla, N., Litterio, N., Boggio, J. 2008. Eficacia de la moxidectina en el control de aislamientos de *Haemonchus spp.* resistentes a la ivermectina en cabras. xviii Jornadas Argentinas y xiii Jornadas Latinoamericanas de Fármaco-Toxicología. Buenos Aires. Argentina.
- Niec R. 1968. Cultivo e identificación de larvas infectantes de nematodos gastrointestinales del bovino y ovino. Manual técnico N° 3. INTA, Argentina, Pp 1-37.

INFLUENCIA DE LA VÍA DE ADMINISTRACIÓN EN LA ACTIVIDAD DE IVERMECTINA CONTRA *Haemonchus contortus* RESISTENTE EN OVINOS

Lloberas, M.¹; Álvarez, L.²; Entrocasso, C.¹; Virkel, G.²; Lanusse, C.²; y Lifschitz, A.²

¹Laboratorio de Parasitología, EEA INTA Balcarce, Argentina; ²Laboratorio de Farmacología, CIVETAN (CONICET), Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA, Tandil, Argentina

Introducción

Las LMs se pueden administrar por diferentes vías que fueron extensamente probadas. Las formulaciones disponibles para ovinos son soluciones inyectables para ser aplicadas por vía subcutánea y soluciones para ser administradas vía oral. Las mismas presentan algunas diferencias que comprenden desde su utilización en la práctica clínica así como también de su espectro antiparasitario. En nuestras condiciones de explotación, la formulación subcutánea de IVM fue la más utilizada, por su practicidad, su espectro contra endo y ectoparásitos y su elevada eficacia inicial, además de ser la única formulación disponible en el mercado. Sin embargo, con la aparición de resistencia por parte de diferentes géneros parasitarios, las condiciones óptimas de vías de utilización deben ser reevaluadas. En este escenario el objetivo del trabajo fue comparar la eficacia clínica y la farmacocinética de la Ivermectina bajo condiciones estandarizadas en un mismo estudio, administrada por diferentes vías (subcutánea e intraruminal) sobre cepas de parásitos resistentes a endectocidas

Materiales y Métodos

Se utilizaron 26 corderos, naturalmente infectados en la Reserva 8 de INTA Balcarce, con antecedentes de resistencia a la Ivermectina (IVM). Los animales fueron divididos en tres grupos experimentales homogéneos en cuanto a edad, peso y estado sanitario: a) sin tratamiento antihelmíntico (grupo CONTROL), (n=6); b) tratado con Ivermectina (IVM) por vía subcutánea a la dosis de 0,2 mg/kg (grupo SC, (n=9); y c) tratado con IVM por vía intraruminal a la dosis de 0,2 mg/kg (grupo IR, n=10). Para el estudio parasitológico, al día 15 post-tratamiento se realizó la necropsia parasitológica de seis animales por grupo, para el conteo e identificación de parásitos adultos en el aparato digestivo según los lineamientos de la World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP).

El porcentaje de eficacia de cada grupo fue calculado a través de la determinación de la media geométrica del número de nematodos recuperados en cada grupo experimental, utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Eficacia (\%)} = \left[\frac{\text{media geométrica control} - \text{media geométrica tratado}}{\text{media geométrica control}} \right] \times 100.$$

Se realizó el análisis estadístico por métodos no paramétricos (Kruskal Wallis).

Para el estudio farmacológico se tomaron muestras de sangre por punción venosa durante los 15 días del experimento para evaluar la disponibilidad plasmática según tratamiento. Se sacrificaron cuatro animales por grupo a los tres días post-tratamiento, de los que se tomaron muestras de mucosas y fluidos del abomaso e intestino, y también se recolectaron los especímenes adultos de *H. contortus*. Las muestras colectadas fueron analizadas por cromatografía líquida de alta performance (HPLC). El análisis de los datos obtenidos se realizó por el programa PK solution y se realizó un ANOVA para establecer las diferencias estadísticas.

Resultados

La eficacia total fue de 70,3 y 95,3% para los grupos SC e IR, respectivamente. En el abomaso, la eficacia fue de 52,4 y 81,9%; los géneros implicados se muestran en la Tabla 1. En el intestino la eficacia fue de 59,2 y 99,9% para SC e IR, respectivamente, encontrándose diferencias significativas de los tratamientos con respecto al grupo testigo y entre tratamientos.

Tabla 1. Media geométrica (Xg) y eficacia de los tratamientos en el control de parásitos del abomaso.

Trata-Miento	<i>Haemonchus sp</i>	<i>Telad. sp</i>	<i>T.axei</i>	Total
CONTROL Xg	502,4 a	789,8 a	322,0 a	1.740,6 a
SC Xg	597,4 a	36,1 b	20,6 b	829,2 ab
Eficacia (%)	0	95,4	93,6	52,4
IR Xg	300,1 a	3,2 c	0,6 c	313,8 b
Eficacia (%)	40,2	99,6	99,8	81,9

Como muestra la Figura 1, las concentraciones plasmáticas de IVM administrada por vía SC fueron mayores que cuando fue administrada por vía IR, lo que determina una mayor

disponibilidad plasmática, particularmente útil en el tratamiento de parásitos externos. Sin embargo, las concentraciones de IVM en el contenido y mucosas del tracto gastrointestinal (sitio de localización del parásito) fueron mayores cuando la droga fue administrada por vía IR (Figura 2).

Figura 1. Perfil de concentraciones plasmáticas (promedios \pm desvío estándar) de Ivermectina tras su administración por vía subcutánea (SC) e intraruminal (IR) a razón de 0,2 mg/kg en.

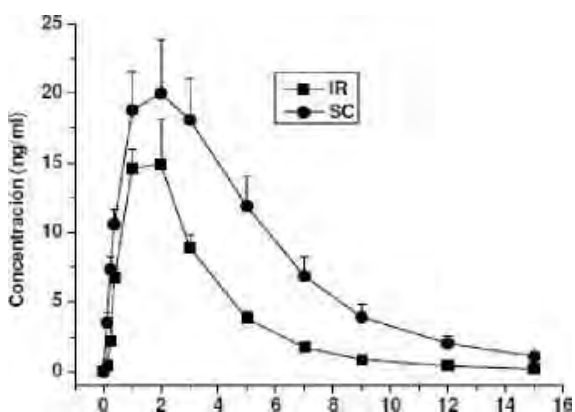
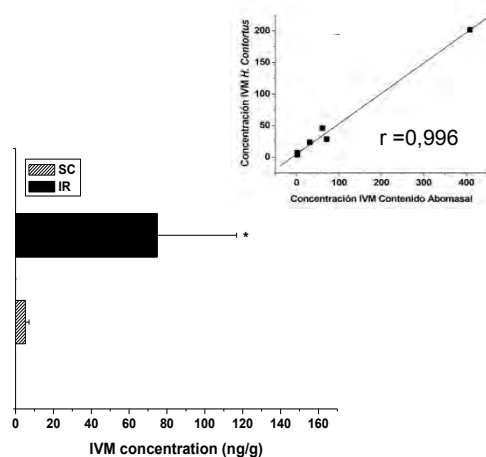


Figura 2. Concentraciones de Ivermectina (IVM) en *H. contortus* tras su administración por vía subcutánea (SC) e intraruminal (R) a razón de 0,2 mg/kg en ovinos.



El inserto muestra la correlación obtenida entre las concentraciones de droga en el parásito y las obtenidas en el contenido abomasal. (*) Concentraciones significativamente diferentes; r^2 coeficiente de correlación.

Discusión

La disponibilidad plasmática para ambas vías de administración fue similar. No obstante los resultados del TEC mostraron que la eficacia de la IVM es mayor cuando la droga es administrada por vía IR. Esta diferencia es más marcada en el abomaso y más específicamente en *H. contortus*, principal parásito del ovino, donde la eficacia aumentó un 40% cuando se administró IVM por vía IR. La mayor concentración del fármaco hallada en el parásito luego del tratamiento IR permite aseverar que la incorporación de la droga al parásito por vía transcuticular es relevante para su eficacia, aún para aquellos parásitos hematófagos como *H. contortus*, y la mayor concentración del fármaco en el sitio de localización parasitaria es fundamental para la incorporación de dicho fármaco al parásito. Estas mayores concentraciones encontradas en el contenido abomasal y en el parásito se correlacionan con los valores de eficacia obtenidos luego de los dos tratamientos. Por lo tanto, la vía enteral puede ser utilizada como alternativa terapéutica en casos de resistencia múltiple a drogas.

Conclusión

La mayor concentración de IVM dentro de los parásitos luego de la administración por vía IR, permite aseverar que la incorporación de la droga al parásito por vía transcuticular es relevante para la eficacia clínica, aún para aquellos parásitos hematófagos como *H. contortus*. Basados en estos resultados el incremento de la exposición al fármaco modificando la vía de administración puede ser una buena estrategia para matar a los nematodos resistentes heterocigotos presentes en las fases tempranas del desarrollo de la resistencia.

DETECCIÓN DE RESISTENCIA ANTIHELMÍNTICA EN NEMATODOS GASTROINTESTINALES DE OVINOS MEDIANTE TÉCNICAS *in vivo* e *in vitro*

Luque, S.¹; Entrocasso, C.¹; Sánchez, E.¹; Lloberas, M.¹
¹Laboratorio de Parasitología, EEA INTA Balcarce

Introducción

La gastroenteritis parasitaria es una enfermedad de curso generalmente crónico, caracterizada por alteraciones gastrointestinales, retraso del crecimiento y disminución en la producción. Es producida principalmente por nematodos gastrointestinales causantes de importantes pérdidas productivas, tanto en su forma clínica como subclínica. En este sentido, *H. contortus* es una de las especies parasitarias más importantes en la producción ovina de la pampa húmeda. En las últimas décadas, su control se basó exclusivamente en el uso de drogas antihelmínticas, lo que llevó al desarrollo de resistencia a casi todos los grupos químicos. La resistencia antihelmíntica es un motivo de preocupación creciente en la producción de ovinos de muchas partes del mundo, incluso en nuestro país (Suarez, 2007). El método más efectivo para detectar la resistencia es el Test de eficacia controlada (TEC), sin embargo es difícil de llevar a cabo porque involucra el sacrificio de animales. En cambio, el método más usado para detectar y monitorear la presencia de resistencia es el test de reducción en el conteo de huevos (TRCH), una técnica *in vivo* aplicable a todos los antiparasitarios disponibles y que presenta algunas limitaciones prácticas. En un intento de superar estas limitaciones, durante los últimos 30 años han sido desarrolladas, y aún continúan perfeccionándose, un conjunto de pruebas *in vitro* para el estudio de resistencia. Estas técnicas presentan como ventaja el bajo costo para su ejecución, ya que requieren pocos insumos (animales, fármacos y equipamiento) y son rápidas y fácilmente aplicables, no obstante, todavía no se encuentran estandarizadas para su utilización en laboratorios de diagnóstico.

Materiales y Métodos

El trabajo fue realizado en las instalaciones de la EEA-INTA Balcarce, se utilizaron 22 corderos divididos en dos grupos homogéneos, en peso y condición sanitaria. Un grupo fue tratado con IVM (0,8 mg/kg de peso vivo) y otro con LVM (10 mg/kg de peso vivo). Se tomaron muestras de materia fecal directamente del recto a los días 0, 10 y 14 post tratamiento para realizar un Test de reducción del conteo de huevos (TRCH), para estimar la eficacia clínica de cada uno de los fármacos. Adicionalmente,

a partir de un pool de muestras de cada grupo tratado se realizó el coprocultivo para la identificación de géneros parasitarios.

Para el Test *in vitro* se aislaron cepas de *H. contortus* susceptibles y resistentes de diferentes establecimiento. Luego del proceso de estandarización, y puesta a punto de la técnica se llevó a cabo el Test de desarrollo larval (TDL) para ambas drogas. Las concentraciones de LVM utilizadas en el test fueron las coincidentes con los valores hallados por otros autores en el plasma y en el contenido abomasal luego del tratamiento con LVM (7,5 mg/kg) por vía oral, subcutánea e intraruminal. Las concentraciones seleccionadas para IVM fueron coincidentes con las concentraciones halladas en *H. contortus* y en el contenido abomasal luego del tratamiento con IVM por vía intraruminal (Lloberas, 2013).

El porcentaje de reducción del conteo de huevos por gramo de materia fecal (TRCH) se calculó mediante la fórmula:

$$\text{Reducción (\%)} = 100 * (1 - T1 / T0)$$

donde T1 es el promedio de huevos por gramo de materia fecal (hpg) del grupo tratado al día 14, y T0 es el promedio del grupo previo al tratamiento.

Para evaluar la eficacia clínica del LVM, el segundo muestreo fue realizado a los 10 días post tratamiento.

Para el test *in vitro* se calculó la dosis letal 50 (DL50), definida como la concentración de droga requerida para inhibir el desarrollo del 50% mediante una curva dosis respuesta. Se calculó también el factor de resistencia que se obtiene de la relación de la DL50 del aislamiento resistente y el susceptible.

Resultados

Los porcentajes de reducción de la eficacia clínica total fueron de 60 y 89% para IVM y LVM, respectivamente. Al considerar particularmente a *H. contortus*, que es la principal causa de pérdidas económicas y causante de enfermedad, fue del 15% frente a IVM y del 100% frente a LVM (Tabla 1).

Tabla 1. Composición genérica (%) de los coprocultivos al día 0 y a los 10 días post tratamiento (LVM) y 14 días pos tratamiento (IVM).

Trat.	H.c.	T.c.	Trichos.	Coop.	Chab Nem
Día 0	28	0	160	0	56
IVM	60	16	240	0	0
LVM	0	40	560	0	4

Gráfico 1. Curva dosis-respuesta para IVM, correspondiente a la cepa de *H. contortus* resistente. Porcentaje de larvas no desarrolla (%L1) en función del Log10 de la concentración.

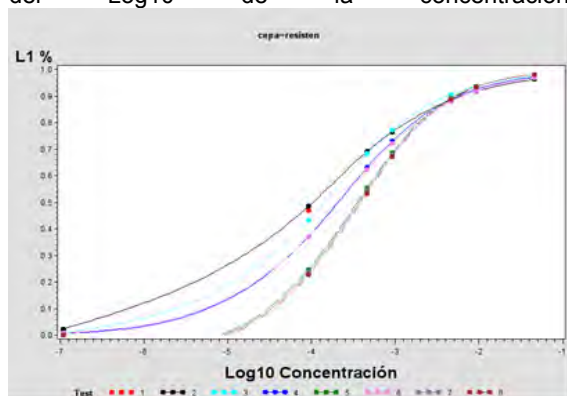
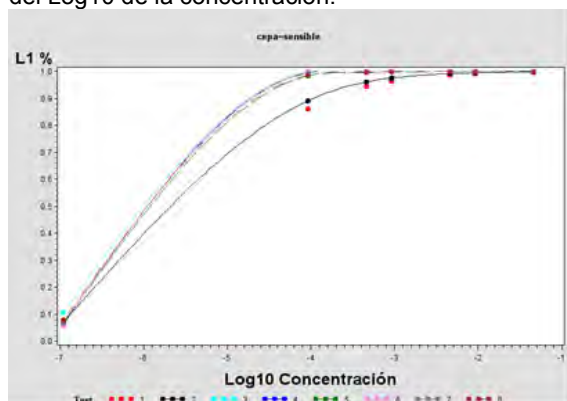


Gráfico 2. Curva dosis-respuesta para IVM, correspondiente a la cepa de *H. contortus* sensible. Porcentaje de larvas no desarrolla (%L1) en función del Log10 de la concentración.



Los aislamientos de *H. contortus* utilizados en el test *in vitro* para IVM evidenciaron una respuesta dependiente de la dosis (Gráfico 1 y 2) Sin embargo, para el LVM la concentración más baja utilizada inhibió por completo el desarrollo larval.

El aislamiento resistente frente a IVM, mostro una DL50 de 462 ng/ml, mientras que para LVM no se pudo estimar la DL50 por falta de ajuste de las curvas. El factor de resistencia FR calculado para IVM resultó en 7,03.

Discusión

Los valores obtenidos por el TRCH son comparables a los valores históricos de la Reserva 8. La eficacia clínica para IVM fue del 60%, sin embargo la eficacia sobre *H. contortus*

fue de 15%. En cambio, la eficacia clínica del LVM fue de 89%, mientras que la eficacia sobre *H. Reserva 8*. La eficacia clínica para IVM fue del 60%, sin embargo la eficacia sobre *H. contortus* fue de 15%. En cambio, la eficacia clínica del LVM fue de 89%, mientras que la eficacia sobre *H. contortus* fue del 100%. Para evaluar la resistencia a IVM se utilizaron las concentraciones descriptas por Lloberas *et al.* (2013), asimismo se incorporaron concentraciones más altas por no observarse un comportamiento dosis dependiente en un primer momento. La DL 50 obtenida (462 ng/ml) fue similar a la concentración de IVM hallada por los autores en el contenido abomasal luego de 12 hs de la administración de IVM (0,2 mg/kg) por vía IR (438 ng/ml). En ese estudio la eficacia obtenida por el TEC para *H. contortus* fue del 40%, resultado comparable con los obtenidos para el test *in vitro* realizado en este trabajo; éste resultado evidencia que la resistencia antihelmíntica sobre el desarrollo de las larvas *in vitro* está asociada con la resistencia del parásito adulto *in vivo*.

Conclusión

En este trabajo se planteó un nuevo enfoque para evaluar la presencia de resistencia antihelmíntica por combinación del uso de técnicas de diagnóstico *in vivo* e *in vitro*. Al mismo tiempo se analizó la aptitud del test de desarrollo larval para la detección de resistencia a IVM y a LVM, siendo este estudio el primero registrado para Argentina. Mediante el TRCH se comprobó la baja eficacia de IVM y LVM. El test de desarrollo larval fue efectivo para la detección de resistencia a IVM en la cepa de *H. contortus* evaluada en este trabajo, cuando se utilizaron las concentraciones correspondientes a las dosis terapéuticas recomendadas, lo que demuestra la necesidad de seguir trabajando sobre la técnica para utilizarla como herramienta de diagnóstico.

Bibliografía

- Suárez, V, Olaechea, F., Romero, J, Rossanigo, C. 2007. Enfermedades parasitarias de los ovinos y otros rumiantes menores em el cono sur de América. Ediciones INTA. Pp 295.
- Lloberas, M, Alvarez, L, Entrocasso, C.,Virkel, G., Ballent, M, Mate, L, Lanusse, C, Lifschitz, A. 2013. Comparative tissue pharmacokinetics and efficacy of moxidectin, abamectin and ivermectin in lambs infected with resistant nematodes: Impact of drug treatments on parasite P-glycoprotein expression. Int. J. Paras.: Drugs and Drug Resistance 3. 20–27

EFICACIA DE MONEPANTEL CONTRA NEMATODOS DE OVINOS CON RESISTENCIA ANTIHELMÍNTICA MÚLTIPLE EN LA REGIÓN TEMPLADA DE ARGENTINA

Steffan, P.¹; Sánchez, E.²; Entrocasso, C.²; Fiel, C.¹; Lloberas M.²; Riva, E.¹ y Guzmán, M.¹
¹Lab. Parasitología, FCV, UNICEN; ²EEA INTA Balcarce

Introducción

Las parasitosis gastrointestinales en los ovinos se encuentran ampliamente distribuidas en diferentes regiones del país con un importante impacto económico en los sistemas de producción (Suárez, *et al.*, 2007). El control de las infecciones parasitarias es fundamental para disminuir la mortalidad de animales y minimizar los efectos subclínicos de la enfermedad sobre la producción de carne y lana. Sin embargo, el fenómeno de resistencia a los antihelmínticos constituye un serio problema en la producción ovina de diversos países del mundo y también en la Argentina. (Nari y Fiel, 1994). En este escenario, es necesaria la búsqueda de nuevas alternativas que suplanten o complementen el control químico para minimizar el impacto productivo en animales expuestos naturalmente a la enfermedad y retrasar el desarrollo de resistencia a los compuestos utilizados en los programas de control.

Basados en estos conceptos, el objetivo del presente trabajo fue evaluar la eficacia del Monepantel – compuesto derivado del amino-acetonitrilo (AAD)- contra nematodos de ovinos naturalmente adquiridos y con antecedentes de resistencia antihelmíntica múltiple a diversos principios con actividad antihelmíntica disponibles en el mercado veterinario.

Materiales y Métodos

La gastroenteritis verminosa en la Reserva 8 destinada a la ganadería ovina fue un problema sanitario aparentemente controlado debido al tradicional pastoreo conjunto o alternado ovino/bovino que ha sido empleado a través de los años de producción. Los programas de control han sido variables en el tiempo y se han aplicado distintos principios activos en rotaciones variables a lo largo de los años. No obstante, existen registros de resistencia a distintos compuestos diagnosticada por el test de reducción de huevos en materia fecal (TRCH) y coprocultivos

Para el estudio, 16 corderos de raza Corriedale fueron agrupados en dos lotes homogéneos en peso vivo y estado clínico. El Grupo 1 fue tratado con Monepantel, Novartis Animal Health (Zolvix®) por vía oral a la dosis de 1ml/10 kpv (2,5 mg/kpv) y el Grupo 2 actuó como control sin tratamiento. Ambos permanecieron en

corrales a piso, separados y alimentados ad libitum con heno libre de larvas infestivas hasta la necropsia.

Los animales fueron observados diariamente para registrar cualquier anomalía atribuible al tratamiento antiparasitario y se extrajeron muestras de materia fecal de los animales del Grupo 1 para determinar los valores de huevos por gramo de materia fecal (HPG) a los días +2 y +4 del tratamiento, través de la técnica de McMaster modificada.

Foto 1. Corderos en los corrales experimentales.



A los 9 días post-tratamiento los animales fueron sacrificados y se les realizó la necropsia parasitológica con el fin de contar e identificar las poblaciones de nematodos establecidas en el tracto digestivo y determinar la eficacia del compuesto evaluado por comparación entre los dos grupos del estudio según las normativas de la World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) (Coles, 1992). La eficacia de Monepantel fue calculada a través de la determinación de la media geométrica del número de nematodos recuperados en cada grupo experimental y utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Eficacia (\%)} = ((Xg C - Xg T) / Xg C) \times 100$$

Donde Xg C es la media geométrica del grupo control y Xg T es la media geométrica del grupo tratado.

Se utilizó el programa InfoStat (2004) para la comparación estadística de valores entre los Grupos 1 y 2 respectivamente.

Resultados

El promedio de huevos de nematodos en la materia fecal de los animales del Grupo 1 a los 2 y 4 días del tratamiento se presentan en el Cuadro 1. Se observó una drástica reducción del HPG a los 2 días del tratamiento (> 98%). A los 4 días post tratamiento los conteos fueron nulos (Tabla 1).

Tabla 1. Huevos de nematodos en la materia fecal de animales tratados con Monepantel a diferentes tiempos de extracción.

Grupo 1	Día 0	Día +2	Día +4
HPG	1600	20	0

La reducción del conteo de huevos en heces (HPG) fue de 100% a los 4 días post-tratamiento y se mantuvo hasta la necropsia de los animales al día 9 post tratamiento ($P < 0,05$) (Tabla 2).

La eficacia antihelmíntica obtenida por Monepantel 2,5% contra nematodos de ovinos naturalmente adquiridos y con antecedentes de resistencia antihelmíntica múltiple se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Eficacia de Monepantel 2,5% contra nematodos con antecedentes de resistencia antihelmíntica múltiple.

	Abomaso		Intestino Delgado				I. Grueso
	H.c.	T.c.	T.a.	T.c.	C.p.	N.s.	Trich
%	100	100	99.7	100	100	99.7	75.2*
E	*	*	*	*	*	*	
f							

*Diferencias significativas ($P < 0.05$).

Discusión

La alta eficacia obtenida (> 99%) contra los nematodos de localización abomasal *H. contortus*, *T. circumcincta*, *T. axei* y los que parasitan el intestino delgado *T. colubriformis*, *T. vitrinus*, *C. curticei*, *C. mcmasteri* y *N. spathiger* es coincidente con estudios previos en ovinos con cepas que demostraron distinto nivel de susceptibilidad y resistencia al resto de los principios activos – levamisol, bencimidazoles y avermectinas- incluyendo estadios inmaduros (L4) o adultos de los distintos nematodos.

La explicación de su alta eficacia sobre cepas parasitarias resistentes al resto de los antihelmínticos estaría dada en que los

derivados del amino acetonitrilo (AAD) presentan un modo y lugar de acción diferente al que tienen los otros antihelmínticos y por lo tanto no existe resistencia lateral. El presente estudio encuadra al Monepantel como altamente eficaz > 98%- contra nematodos trichostrongylideos abarcando cepas con resistencia múltiple a distintos compuestos disponibles en el mercado veterinario, cuando es administrado oralmente a los ovinos a la dosis de 2.5 mg/ kilo de peso vivo.

Conclusión

La utilización de este fármaco en programas de control contribuye a disminuir las pérdidas económicas en los sistemas de producción ovina que se desarrollan en las áreas templadas y frías de la Pampa Húmeda de Argentina, especialmente, en aquellos establecimientos donde la resistencia a los antihelmínticos ha sido diagnosticada y por lo tanto, constituye uno de los problemas sanitarios y productivos más importantes a resolver

Agradecimientos

Los autores agradecen al Sr José Llamas y personal de campo de la Reserva 8 de la EEA-INTA Balcarce y al Sr. Bernardino Borda del Laboratorio de Parasitología de la EEA-INTA Balcarce por la responsabilidad, colaboración y amplia predisposición para llevar adelante los trabajos de campo, mantenimiento, muestreos y necropsia de los animales del estudio.

Bibliografía

- G.C.Coles, C.Bauer, F.H.M.Borgsteede, S, Geerts, T.R.Klei, M.A.Taylor y P.J. Waller. 1992. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology*, 44: 35-44.
- Nari, A. y Fiel, C. 1994. Enfermedades parasitarias de importancia económica em bovinos. Bases epidemiológicas para su prevención y control. Ed hemisfério sur. Pp 520.
- Suárez, V, Olaechea, F., Romero, J, Rossanigo, C. 2007. Enfermedades parasitarias de los ovinos y otros ruminantes menores em el cono sur de América. Ediciones INTA. Pp 295.

EFICACIA COMPARATIVA DE LA MOXIDECTINA (ORAL VS. INYECTABLE) EN NEMATODES GASTROINTESTINALES (*Haemonchus* spp) DE LOS CAPRINOS RESISTENTES A LA IVERMECTINA

Suarez Archilla G.¹; Cooper L.², Cerutti J.² Mohn C.³, Anziani, O.S.^{1,2}
¹EEA INTA Rafaela; ²FCA, UCC; ³AER Deán Funes

Introducción

Los caprinos son los rumiantes con mayor susceptibilidad a los nematodos gastrointestinales y su control plantea un desafío especialmente en sistemas lecheros con resistencia a los antihelmínticos. Estudios llevados a cabo en el área central de la Argentina indican que la ivermectina es el antihelmíntico más utilizado en esta especie de rumiantes pero la resistencia a esta droga está muy difundida en la región. La ivermectina y la moxidectina son lactonas macrocíclicas pero el desarrollo de resistencia no es idéntico entre ambas moléculas. Bajo condiciones de campo y por su mayor potencia farmacológica, es común observar una mejor eficacia clínica temporal de la moxidectina frente a aislamientos de *Haemonchus* con resistencia a otras lactonas. Así mismo en otros rumiantes como ovinos y bovinos existen antecedentes sobre la variabilidad de la eficacia de las lactonas macrocíclicas en función de la vía de administración.

El objetivo del presente trabajo fue comparar la eficacia clínica de la moxidectina en caprinos administrada por vía oral con respecto a la vía inyectable sobre nematodos gastrointestinales resistentes a la ivermectina.

Materiales y Métodos

Como animales experimentales se utilizaron 49 cabras adultas y cabrillonas Anglo Nubian parasitados naturalmente por nematodos gastrointestinales pertenecientes a dos hatos de la provincia de Córdoba (AER INTA Deán Funes y Universidad Católica de Córdoba) con antecedentes de resistencia a las ivermectinas. En cada establecimiento se formaron dos grupos de animales comparables ($p > 0.05$) por el número de huevos por gramo de heces (HPG) y tratados con moxidectina oral o inyectable a la dosis de 0,200 mgr/kg. La eficacia clínica de los tratamientos fue determinada por un test de reducción en el conteo de huevos (TRCH) utilizando las siguientes formulas:

Formula 1: $100 (1 - T2/T1)$. Donde T2 y T1 representan el promedio del HPG post y pre tratamiento respectivamente de los mismos animales.

Formula 2: $100 (1-p)$. Siendo p la proporción de huevos resistentes, dada por $p = t2/t1$ donde

t1 y t2 representan al número total de huevos contados para todos los animales pre y post tratamiento, respectivamente.

Formula 3: $(1/n) \sum 100(1-Ti2/Ti1)$ Donde n es el total de animales del grupo; Ti1 y Ti2 son los HPG de un mismo individuo dentro del grupo, obteniendo la media aritmética de las reducciones individuales.

Resultados

En ambos establecimientos los coprocultivos pre tratamiento estuvieron dominados por *Haemonchus* spp (>95 % de larvas observadas). Los promedios, el desvío estándar, el rango del HPG antes y catorce días después de los tratamientos y la eficacia de los mismos (TRCH) de acuerdo a las tres diferentes fórmulas utilizadas son presentados en la Tabla 1. No se observaron diferencias en los resultados obtenidos entre las tres fórmulas empleadas en el TRCH. En la Tabla 2 se presentan los resultados correspondientes al número de animales eliminando huevos en cada tratamiento, el HPG máximo observado y el porcentaje de animales que mostraron reducciones del HPG \geq al 95 %.

Discusión y conclusiones

Las presentes observaciones sugieren que las lactonas orales pueden tener mayor eficacia que las inyectables. Es probable que la concentración de la droga en contacto con el parásito varíe en función de cada vía. En ovinos ha sido demostrado que la mayor eficacia de la ivermectina administrada en forma oral o intra-ruminal vs inyectable parece estar asociada a una mayor concentración de la droga en el contenido gastrointestinal y por ende una mayor exposición de los nematodos adultos a la droga. La administración oral, resulta también en una mayor retención de las drogas unidas a la ingesta y una menor absorción en plasma. Por lo tanto, las concentraciones de ivermectina en *H. contortus* se encuentran en relación a las concentraciones alcanzadas en el sitio de localización parasitaria y muy probablemente este podría ser el caso también de la moxidectina.

Las formulaciones orales de la moxidectina tienen, con respecto a las inyectables, una

menor persistencia en los hospedadores. En este contexto podrían tener un menor periodo de retiro y ejercer también una menor presión de selección al disminuir el establecimiento de larvas resistentes.

Sin embargo y como ha sido demostrado recientemente en bovinos, la administración

oral de la ivermectina no siempre tiene un impacto en la eficacia clínica y depende del nivel previo de resistencia y de los géneros parasitarios resistentes actuantes al momento del tratamiento.

Tabla 1. Eficacia comparativa de la moxidectina (oral e inyectable) en dos hatos caprinos con antecedentes de resistencia a la ivermectina.

Establ.	Vía	n	Animales eliminando huevos		HPG Máximo	animales c/RCH $\geq 95\%$
			Valor Absoluto	Porcentaje (%)		
AER INTA Deán Funes	INY.	15	11	73	300	60%
	ORAL	14	2	14	90	100%
Universidad Católica de Córdoba	INY.	10	4	40	210	80%
	ORAL	10	0	0	0	100%

Tabla 2. Eficacia comparativa de moxidectina (oral e inyectable) en caprinos (% de animales eliminando huevos y % de animales con RCH $\geq 95\%$)

Establ.	Vía	n	Animales eliminando huevos		HPG Máximo	animales c/RCH $\geq 95\%$
			Valor Absoluto	Porcentaje (%)		
AER INTA Deán Funes	INY.	15	11	73	300	60%
	ORAL	14	2	14	90	100%
Universidad Católica de Córdoba	INY.	10	4	40	210	80%
	ORAL	10	0	0	0	100%

Bibliografía

- Canton, C., Canton, L., Domínguez, P., Moreno, L., Lanusse, C., Alvarez, L., Ceballos, L. Field trial assessment of ivermectin pharmacokinetics and clinical efficacy against susceptible and resistant nematode populations in cattle. *Veterinary Parasitology* (en prensa).
- Lloberas, M., Alvarez, L., Entrocasso, C., Virkel, G., Lanusse, C., & Lifschitz, A. 2012. Measurement of ivermectin concentrations in target worms and host gastrointestinal tissues: influence of the route of administration on the activity against resistant *Haemonchus contortus* in lambs. *Experimental parasitology*, 131(3), 304-309.
- Anziani, O.S., & Fiel, C.A. 2015. Resistencia a los antihelmínticos en nematodos que parasitan a los rumiantes en la Argentina. *RIA. Revista de investigaciones agropecuarias*, 41(1), 34-46.
- Lifschitz, A., Virkel, G., Ballent, M., Sallovitz, J., Pis, A., & Lanusse, C. 2005. Moxidectin and ivermectin metabolic stability in sheep ruminal and abomasal contents. *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*, 28(5), 411-418.
- Leathwick, D. M., & Miller, C. M. 2013. Efficacy of oral, injectable and pour-on formulations of moxidectin against gastrointestinal nematodes in cattle in New Zealand. *Veterinary parasitology*, 191(3-4), 293-300.

EVALUACIÓN DEL INCREMENTO DE LA DOSIS TERAPÉUTICA EN EL TRATAMIENTO COMBINADO CON IVERMECTINA Y FENBENDAZOL SOBRE *Haemonchus contortus* RESISTENTE

Luque, S.¹; Lloberas M.²; Entrocasso C.²; Lanusse, C.¹; Alvarez, L.¹; Lifschitz, A.¹

¹Laboratorio de Farmacología, CIVETAN (CONICET-CICPBA), Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA, Tandil, Argentina; ²Laboratorio de Parasitología, EEA INTA Balcarce, Argentina

Introducción

El uso de fármacos es la principal herramienta de control de las parasitosis, lo que muchas veces implica realizar sucesivos tratamientos en cortos periodos de tiempo. Este uso indiscriminado de fármacos y su empleo sin base técnica, deriva en la selección de cepas de parásitos resistentes.

Ante el avance del fenómeno de resistencia antihelmíntica, se han propuesto diferentes estrategias de base farmacológica con el objetivo de retardar y/o controlar el desarrollo de la misma (Geary *et al.*, 2012; Lanusse *et al.*, 2014). Dichas estrategias, aún bajo evaluación, se basan en el uso combinado de fármacos con distintos mecanismos de acción/resistencia y/o en el incremento de la exposición parasitaria a los antihelmínticos.

El objetivo de este trabajo fue comparar la eficacia clínica de fenbendazol (FBZ) e IVM administrados individualmente o combinados a 5 veces la dosis terapéutica en corderos parasitados con una cepa de *H. contortus* altamente resistente a ambas moléculas.

Materiales y Métodos

Se utilizaron cuarenta (40) corderos provenientes de la Reserva 8 de INTA Balcarce, naturalmente infestados con nematodos gastrointestinales resistentes. Los animales fueron divididos en cuatro (4) grupos experimentales (n=10) homogéneos en peso y conteo de huevos por gramo de materia fecal (hpg): a) Grupo Control: sin tratamiento; b) tratados con IVM (1mg/kg); c) tratados con FBZ (25mg/kg) y d) tratados con la combinación IVM+FBZ (1 y 25 mg/kg respectivamente), todos los tratamientos se efectuaron por vía oral. A los 14 días post tratamiento se tomaron muestras de materia fecal para calcular el porcentaje de eficacia clínica por medio del test de reducción del conteo de huevos (TRCH) (Coles *et al.*, 1992). La identificación de los géneros parasitarios se realizó mediante coprocultivos de cada grupo. Para el estudio farmacológico se tomaron muestras de sangre por punción venosa durante los 14 días del experimento. Las muestras colectadas fueron analizadas por cromatografía líquida de alta performance (HPLC). Para el análisis de los datos se utilizó el programa PK solution y se

realizó un ANOVA para establecer las diferencias estadísticas.

Resultados

La eficacia clínica fue menor al 95% para todos los grupos experimentales, los resultados se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1. Comparación de la media aritmética (Xa) de hpg entre los diferentes grupos experimentales al día 14 post tratamiento, su eficacia clínica y los intervalos de confianza 95% (IC). DE: Desvío estándar. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas a P<0.05.

	CON-TROL	IVM ₁	FBZ ₂₅	IVM ₁ +FBZ ₂₅
Xa	12942 _a	5769 ^a	7602 ^a	4065 ^b
DE	8866,2	4173,8	4402,4	3348,2
IC		(14-77)%	(0-68)%	(36-85)%
% Reduc		55%	41%	69%

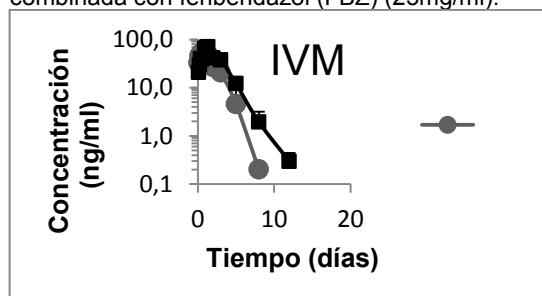
Los resultados de los coprocultivos post tratamiento se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Representantes de los géneros parasitarios presentes en el cultivo de materia fecal a los 14 días post tratamiento para cada grupo experimental.

	Haem	Telad	Tricho	Nem
Día 0	56	32	12	-
Día 14				
IVM ₁	100	-	-	-
FBZ ₂₅	67	-	30	3
IVM ₁ +FBZ ₂₅	100	-	-	-

La disponibilidad sistémica de IVM fue significativamente mayor (75%) luego de su administración combinada con FBZ. En el Gráfico 1 se presenta el perfil de concentraciones plasmáticas promedio de IVM.

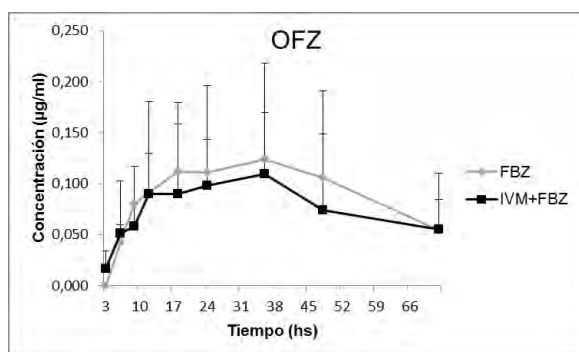
Gráfico 1. Perfil de concentraciones plasmáticas promedios (±DE) de ivermectina luego de su administración por vía i.r., a 5 veces la dosis terapéutica (1 mg/kg) de manera individual o combinada con fenbendazol (FBZ) (25mg/ml).



Las diferencias observadas en los perfiles de concentraciones plasmáticas se reflejaron en los parámetros farmacocinéticos. Los valores de ABC_{0-t} y $T_{1/2el}$ se incrementaron significativamente luego de la administración combinada ($ABC_{0-t} = 217,41 \pm 42,23$ ng-d/ml y $T_{1/2el} = 1,32 \pm 0,15$ d), en comparación con los valores del grupo tratado únicamente con IVM ($ABC_{0-t} = 120,21 \pm 28,03$ ng-d/ml y $T_{1/2el} = 0,85 \pm 0,2$ d) ($P < 0,05$). No se observaron diferencias significativas para los parámetros farmacocinéticos T_{max} y C_{max} .

La administración conjunta de IVM con FBZ no afectó la disponibilidad plasmática de OFZ (principal metabolito de FBZ). En el Gráfico 2 se presenta el perfil de concentraciones plasmáticas promedio de OFZ. Se obtuvieron bajas concentraciones de OFZ en plasma a pesar de haber administrado FBZ a 5 veces la dosis terapéutica. No se presentaron diferencias significativas en los parámetros farmacocinéticos entre los grupos experimentales.

Gráfico 2. Perfil de concentraciones plasmáticas promedios (\pm DE) de oxfendazol (OFZ) principal metabolito del fenbendazol (FBZ) luego de su administración por vía i.r., a 5 veces la dosis terapéutica (25 mg/kg) de manera individual o combinada con ivermectina (IVM) (1mg/ml).



Discusión

Las combinaciones de antihelmínticos de diferentes grupos químicos se han propuesto como una estrategia para retardar el desarrollo de resistencia (Geary *et al.*, 2012). En este estudio, la población parasitaria presentó niveles muy elevados de resistencia a los fármacos administrados de manera individual. Por lo cual la administración combinada no logró mejorar este resultado.

Trabajos previos sobre la eficacia clínica de albendazol e IVM sobre cepas de *H. contortus* altamente resistentes demostraron que la mayor exposición sistémica luego de su administración a diferentes dosis involucra un incremento significativo de la eficacia antihelmíntica (Álvarez *et al.*, 2012; Álvarez *et al.*, 2015).

Si bien en este trabajo se observó un aumento significativo de la eficacia clínica luego del tratamiento combinado a cinco veces la dosis terapéutica, no se logró alcanzar el 95% de reducción en el conteo de huevos recomendado por la Asociación mundial de parasitología veterinaria (WAAVP).

Conclusiones

La población parasitaria en estudio presentó resistencia a IVM y FBZ administrados a cinco veces la dosis terapéutica tanto de manera individual como combinada en ovinos naturalmente infestados, siendo *H. contortus* la principal especie involucrada en la resistencia.

La disponibilidad sistémica de IVM fue mayor luego de su administración combinada con FBZ a cinco veces la dosis terapéutica (interacción farmacocinética positiva). Sin embargo, no se observaron modificaciones en la cinética plasmática de FBZ/metabolitos luego de su administración conjunta con IVM.

Se observaron bajas concentraciones de FBZ/metabolitos en plasma, aún luego de su administración a cinco veces la dosis terapéutica.

Bibliografía

- Álvarez, L.; Suarez, G.; Ceballos, L.; Moreno, L.; Lanusse, C. 2012. Dose-dependent systemic exposure of albendazole metabolites in lambs. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 35: 365-372.
- Álvarez, L., Suarez, G., Ceballos, L., Moreno, L., Canton, C., Lifschitz, A., Ballent, M., Mate, L., Virkel, G., Lanusse, C., 2015. Integrated assessment of ivermectin pharmacokinetics, efficacy against resistant *Haemonchus contortus* and P-glycoprotein expression in lambs treated at three different dosage levels. *Vet. Parasitol.* 210, 53–63.
- Coles, G. C.; Bauer, C.; Borgsteede, F.; Geerts, S.; Klei, T. R.; Taylor, M. A.; Waller, P. 1992. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) methods for detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Vet. Parasitol.* 44: 35-44.
- Geary, T.G.; Hosking, B.C.; Skuce, P.J.; von Samson-Himmelstjerna, G.; Maeder, S.; Holdsworth, P.; Pomroy, W.; Vercruyse, J. 2012. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) Guideline: Anthelmintic combination products targeting nematode infections of ruminants and horses. *Veterinary Parasitology* 190: 306-316.
- Lanusse, C.; Álvarez, L.; Lifschitz, A. 2014. Pharmacological knowledge and sustainable anthelmintic therapy in ruminants. *Veterinary Parasitology* 204: 18–33

EFICACIA DE IVERMECTINA Y MOXIDECTINA CONTRA *Haemonchus contortus* RESISTENTE: EFECTO DE LA DOSIS

Lifschitz, A.^{2,3}; Lloberas, M.¹; Alvarez, L.^{2,3}; Entrocasso, C.¹; Ballent, M.^{2,3}; Virkel, G.^{2,3}; Luque, S.¹; Lanusse, C.^{2,3}
¹INTA EEA Balcarce; ²Lab. Farmacología FCV, UNCPBA, Tandil; ³CONICET

Introducción

Las Lactonas macrocíclicas ivermectina (IVM) y moxidectina (MXD) pertenecen a la misma familia de antihelmínticos y por lo tanto comparten algunas propiedades farmacológicas. A pesar de ello se ha descrito un patrón de eficacia diferencial contra los nematodos resistentes (Vickers *et al.*, 2001).

En estudios recientes, se observó una mayor concentración de fármaco dentro del nematodo y una mejor eficacia contra *Haemonchus contortus* resistente después de la administración oral / intrarruminal de IVM en comparación con el tratamiento subcutáneo (Lloberas *et al.*, 2012).

En el presente trabajo se evaluó la relación entre la actividad antihelmíntica y la exposición del tejido / parásito del huésped para IVM y MXD en corderos infectados naturalmente con *H. contortus* resistente. El impacto de una doble dosificación en los perfiles de concentración del fármaco alcanzados en el huésped (circulación sanguínea, contenido gastrointestinal / tejidos) y dentro de *H. contortus* se evaluaron en forma simultánea y estandarizada con la eficacia clínica.

Materiales y Métodos

Se utilizaron 52 corderos Romney Marsh homogéneos en estado general y peso (20-30 kg) mantenidos en corrales a piso durante el experimento. Los corderos se encontraban pastoreando en la Reserva 8 del INTA Balcarce hasta el momento del comienzo, por lo que estaban naturalmente infestados con nematodos gastrointestinales resistentes a IVM. Los experimentos se llevaron a cabo en dos tiempos de forma que se formaron 3 grupos inicialmente, un grupo control sin tratamiento y dos grupos tratados intrarruminalmente con IVM a dosis simple (0,2 mg/kg) y dosis doble (0,4 mg/kg) y posteriormente se formaron otros 3 grupos, uno control sin tratamiento, y dos tratados por vía intrarruminal con MXD a dosis simple (0,2 mg/kg) y dosis doble (0,4 mg/kg).

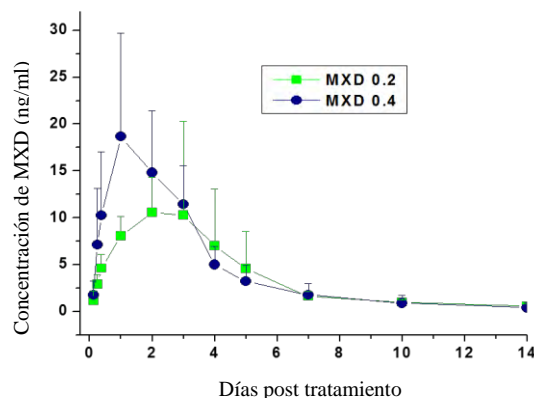
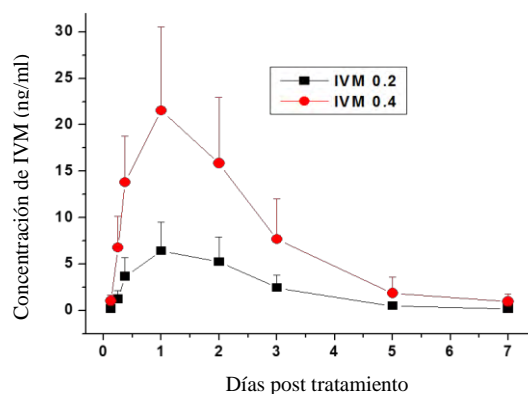
Para el estudio farmacológico, se tomaron muestras de sangre a intervalos prefijados entre los días 0 a 14 post tratamiento.

A las 24 hs post tratamiento se realizó la necropsia parasitológica y se obtuvieron muestras de mucosas y contenidos del tracto gastrointestinal y también se colectaron especímenes de *H. contortus* adultos.

Para el estudio parasitológico se tomaron muestras de material fecal, directamente del recto y en forma individual a los días 0 y 14 para realizar el test de reducción del conteo de huevos (TRCH) y además, se realizó el conteo e identificación de parásitos adultos de los diferentes órganos a los 14 días post tratamiento en la necropsia parasitológica (test de eficacia controlada TEC).

Resultados

Gráficos 1 y 2. Perfiles de concentración plasmática de ivermectina (IVM) y moxidectina (MXD) (n=6) obtenidos luego de la administración intrarruminal de IVM y MXD a razón de 0,2 mg/kg y 0,4 mg/kg en corderos infestados con nematodos resistentes.



Gráficos 3 y 4. Media (\pm DE) ($n=4$) de las concentraciones de IVM y MXD medidas en el plasma, contenido abomasal y *Haemonchus contortus* adultos al día 1 luego de la administración intraruminal a razón de 0,2 mg/kg y 0,4 mg/kg de corderos infestados naturalmente con nematodos resistentes. (*) Valores estadísticamente diferentes de los obtenidos en plasma ($p < 0,05$).

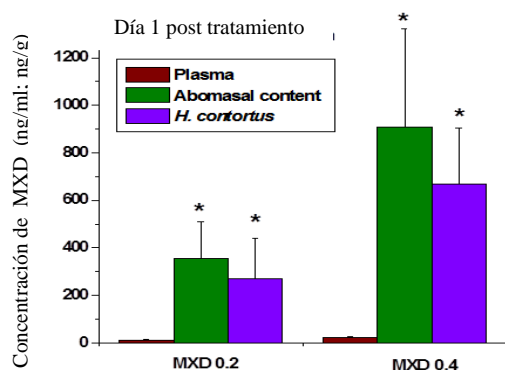
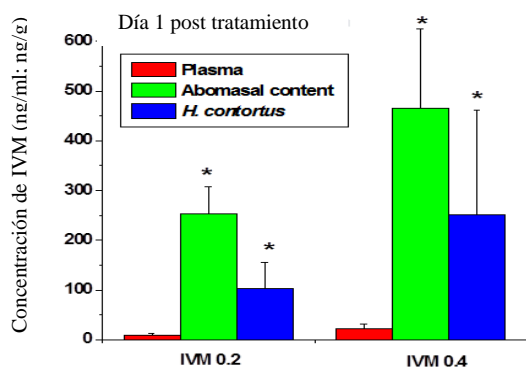
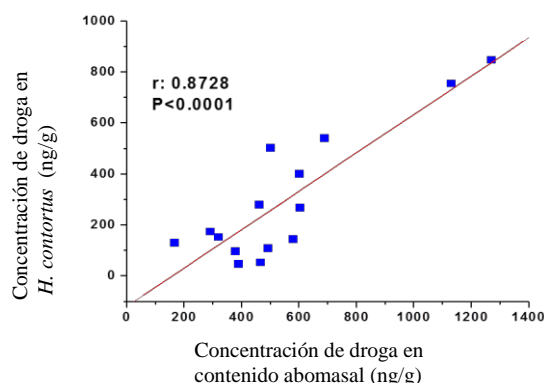


Tabla 1. Conteo de adultos de *H. contortus* (media geométrica) y eficacia obtenida a los 14 días luego de la administración de ivermectina (IVM) and moxidectina (MXD) a razón de 0,2 mg/kg y 0,4 mg/kg en corderos infestados con nematodos resistentes. También se muestran los conteos de nematodos adultos de los grupos sin tratamiento.

Treatment	<i>H. Contortus</i> (geometric mean)	Efficacy
Control	282	-
IVM 0.2	368	No effect 0%
IVM 0.4	367	No effect 0%
Control	3452	-
MXD 0.2	201	94.2%
MXD 0.4	33	99.1%

Gráfico 5. Correlación entre la concentración de droga (IVM o MXD) obtenida en el contenido abomasal y en *H. contortus* recuperados al día 1 luego de la administración intraruminal a 0,2 mg/kg y 0,4 mg/kg en corderos infestados.



Conclusiones

Se observaron tendencias farmacocinéticas lineales en plasma, tejidos diana y *H. contortus* después de la administración intraruminal de IVM y MXD en dosis simples y dobles.

Las concentraciones de fármaco medidas en contenido abomasal y en *H. contortus* adulto fueron significativamente mayores en comparación con las medidas en el plasma.

Se observó una alta correlación entre los perfiles de concentración de fármaco medidos en contenido de abomaso y los alcanzados dentro de *H. contortus* después de los tratamientos con IVM y MXD en ambas dosis.

A pesar de las altas concentraciones de droga acumuladas dentro de las muestras de *H. contortus*, IVM no logró controlar una cepa altamente resistente de *H. contortus*. Por el contrario MXD mostró una eficacia ventajosa en ambas dosis ensayadas.

El alto nivel de eficacia observado a la dosis de 0,4 mg / kg debe considerarse seriamente para optimizar el control de nematodos antes de que se observe una falla terapéutica completa

Bibliografía

- Lloberas, L. Alvarez, C. Entrocasso, G. Virkel, C. Lanusse, A. Lifschitz., 2012. Measurement of ivermectin concentrations in target worms and host gastrointestinal tissues: Influence of the route of administration on the activity against resistant *Haemonchus contortus* in lambs. *Experimental Parasitology*, 131, 304-309.
- Vickers M, Venning M, McKenna PB, Mariadass B., 2001. Resistance to macrocyclic lactone anthelmintics by *Haemonchus contortus* and *Ostertagia circumcincta* in sheep in New Zealand.. *New Zealand Veterinary Journal*, 49,101-5.

EFICACIA DEL MONEPANTEL PARA EL CONTROL DE AISLAMIENTOS DE *Haemonchus contortus* Y *Trichostrongylus* spp CON RESISTENCIA MÚLTIPLE EN CAPRINOS

Cooper, L.¹; Cerutti, J.¹; Mohn, C.²; Torrents, J.³; Suarez Archilla, G.⁴; Anziani, O.S.^{1,4}

¹Universidad Católica de Córdoba; ²INTA Dean Funes; ³ Universidad Nacional del Litoral; ⁴INTA Rafaela

Introducción

En los ovinos y caprinos los nematodos gastrointestinales constituyen, desde una perspectiva global, el principal problema sanitario y productivo. Ambas especies de rumiantes comparten los mismos géneros parasitarios de nematodos gastrointestinales, pero la formación de la respuesta inmune así como la expresión de la misma es menos eficiente en caprinos que en ovinos, resultando en un mayor parasitismo en la primera de estas especies. Así mismo, en los caprinos la absorción de los antihelmínticos es menor que en otros rumiantes y también metabolizan y eliminan estas drogas en forma más rápida.

La resistencia antihelmíntica está comprometiendo seriamente la sustentabilidad del control de estos nematodos en ambas especies de rumiantes lo cual resulta en severas pérdidas económicas y en la dispersión de parásitos portando alelos con resistencia simultánea a drogas con distinto modo de acción. El monepantel es un nuevo antihelmíntico desarrollado para ovinos fundamentalmente para el control de aislamientos con resistencia múltiple; y en nuestro país, así como en la mayoría del mundo donde se comercializa, sus indicaciones de uso son exclusivamente restringidas a los ovinos.

El objetivo de la presente comunicación es informar sobre la actividad del monepantel en caprinos utilizando un test de reducción en el conteo de huevos (TRCH) en dos hatos naturalmente parasitados con aislamientos de *Haemonchus contortus* y *Trichostrongylus* spp con resistencia múltiple (febendazol e ivermectina).

Materiales y Métodos

Las experiencias se llevaron a cabo entre Diciembre de 2015 y Mayo de 2016 en dos hatos caprinos pertenecientes a la AER INTA Deán Funes y a la Universidad Católica de Córdoba. Todas las experiencias contemplaron el uso de animales de diferentes edades y de ambos sexos. En ambos establecimientos existían antecedentes documentados de nematodos gastrointestinales (*Haemonchus contortus* y *Trichostrongylus* spp) con

resistencia simultánea a ivermectina y febendazol.

La eficacia de la droga se determinó a través del test de reducción en el conteo de huevos (TRCH) utilizando la técnica de Mc Master modificada con animales que presentaban al tratamiento valores del número de huevos por gramo (hpg) ≥ 250 . Se realizaron coprocultivos para identificación de los géneros de nematodos intervinientes. En el día 0 se realizaron los tratamientos con monepantel por vía oral a la dosis de 3,75 mg/kg de peso vivo (equivalente a 1,5 veces la dosis indicada en ovinos) y entre los días 10 y 12 posteriores al tratamiento se tomaron nuevas muestras de materia fecal para establecer el TRCH utilizando las siguientes fórmulas. En dos de las experiencias (B y C) se determinó además la evolución del volumen globular por la técnica del microhematocrito (ht).

1) $TRCH = 100 \times (1 - [T2/T1])$ donde T2 es el promedio de los valores de hpg post-tratamiento y T1 el promedio de los valores de hpg pre-tratamiento

2) $TRCH = 100 \times (1 - p)$ donde $p = x/n$, siendo "x" la sumatoria de los huevos pos-tratamiento y "n" la sumatoria de los huevos pre-tratamiento

3) $TRCH = (1/n) \times \sum (100 \times (1 - Ti2/Ti1))$, donde los valores de Ti son los valores de hpg individuales, realizando una reducción individual.

En dos de las experiencias (B y C) se determinó además la evolución del volumen globular por la técnica del microhematocrito (ht) y estos valores se analizaron utilizando el test de Student, InfoStat (Universidad Nacional de Córdoba, www.InfoStat.com.ar).

Resultados y Discusión

En las experiencias A y B las larvas obtenidas en los coprocultivos pre-tratamiento indicó la presencia casi exclusiva de *Haemonchus contortus* (98%) y el resto perteneciente al género *Trichostrongylus* spp, mientras que en la experiencia C la participación relativa de estos géneros fue de 78 % y 22 %, respectivamente. Debido a que existen algunas evidencias conflictivas sobre que fórmula utilizar para determinar la eficacia de los antihelmínticos cuando se utiliza el TRCH, en la presente experiencia y para asegurar la interpretación de los resultados se utilizaron tres fórmulas distintas, no observándose diferencias significativas entre las mismas. En el

TRCH no se observaron diferencias significativas entre las diferentes fórmulas las que variaron entre el 99,7% y 100% para las tres experiencias. Una síntesis de los resultados sobre la eficacia de esta droga es presentada en la Tabla 1.

Estos valores de eficacia evaluados por el TRCH concuerdan con estudios sobre conteos de nematodos adultos de diferentes géneros en infecciones naturales y artificiales informadas en cabras de Nueva Zelanda y Australia utilizando la misma dosis antihelmíntica. En nuestra experiencia, la dosis de 3,75 mg/kg (1,5 veces mayor a la dosis ovina) resultó altamente

efectiva contra *Haemonchus spp* y *Trichostrongylus spp* portando alelos resistentes a la ivermectina y el febendazol. El primero de estos géneros es indudablemente el de mayor importancia para los caprinos del área central de la Argentina y la resistencia hacia ambos antihelmínticos citados anteriormente es extremadamente común.

La mayor respuesta en el aumento del ht observada en la experiencia B sobre la C podría ser atribuible a la mayor presencia del género *Haemonchus* (caracterizado por su hematofagia) parasitando a estos animales.

Tabla 1. Eficacia de monepantel (3,75 mg/kg oral) sobre aislamientos de *Haemonchus contortus* y *Trichostrongylus spp* con resistencia múltiple en caprinos naturalmente parasitados. Promedios de los hpg (rango) y porcentaje en el TRCH comparando diferentes fórmulas.

Exp.	Nº	Promedio hpg (rango)		TRCH (%)			Promedio ht * (rango)	
		Pre-trat.	Post-trat.	F 1	F 2	F 3	Pre-trat.	Post-trat.
A	21	840 (420-600)	0,95 (0-20)	99,8	99,9	99,8	N/A	N/A
B	17	1253 (400-4800)	1,76 (0-30)	99,8	99,8	99,8	21 (15-29) ^a	28 (19-31) ^b
C	14	833 (300-1290)	0	100	100	100	24 (21-30) ^a	25 (20-31) ^a

* Letras diferentes en la misma fila, difieren estadísticamente $p < 0,05$ (test de Student, InfoStat Universidad Nacional de Córdoba, www.InfoStat.com.ar)

A pesar de los fuertes cuestionamientos a la sustentabilidad del control químico, los antihelmínticos son actualmente insumos indispensables en la producción caprina bajo condiciones pastoriles. De acuerdo al presente estudio, el monepantel presenta un interesante potencial de uso, pero debería considerarse que la droga no está registrada en el SENASA para su empleo en caprinos. El uso fuera de marbete constituye una situación excepcional y es potestad exclusiva del médico veterinario, quien debería evaluar cuidadosamente esta situación antes de indicar su empleo. En este contexto, debería considerarse también que el monepantel no debe ser administrado a ovinos y caprinos cuya leche es destinada al consumo humano. Esta droga podría ser de utilidad en tratamientos selectivos de cuarentena, por ejemplo al ingreso de reproductores provenientes de áreas o establecimientos donde son comunes nematodos con resistencia múltiple o en aquellos hatos donde debido a estos fenómenos, ya no existan otros antihelmínticos eficaces. Luego de su administración oral, el monepantel se transforma en el metabolito activo monepantel sulfona y la vida media de esta última es menor en cabras que en ovejas, probablemente por un mayor "clearance" en los caprinos. Así mismo, necesita siempre ser utilizada en rotación con otros antihelmínticos a los fines de evitar el desarrollo rápido de resistencia como ya ha ocurrido recientemente en ovinos de Uruguay,

Holanda, Australia y Brasil e inclusive en caprinos de Nueva Zelanda.

Bibliografía

- Anziani, O.; Caffè, G.; Cooper, L.; Caparros, J.; Mohn, C.; Aguilar S. 2010. Parásitos internos y caprinos de leche. Parte 2. Estudios sobre la resistencia de los nematodos gastrointestinales a los antihelmínticos. Resultados de Investigación Lechera. Proyecto Lechero. Ficha Técnica nº 15 www.inta.gov.ar/lecheria.
- Hoste H., Sotirakis S., Landaus Y., Jackson F., Beveridge I. 2010. Goat –nematode interactions: think differently. Trends Parasitol. 26: 376-381.
- EMA (European Medicines Agency). 2012. Monepantel (caprine and ovine species). Committee for Medicinal Products for Veterinary Use. European Public MRL assessment report (EPMR). 14 pp.
- Rolfe P, Gager H, Schmidt V, Browing A, Allen B, VanHoff K, Miller S, George A, Nottingham R, Potgieter N. 2011. Efficacy and pharmacokinetics of Zolvix (monepantel) against gastrointestinal parasites in goats. Proceedings 23rd International Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology. Session A, 46.

RESISTENCIA ANTIHELMÍNTICA MÚLTIPLE (CLOSANTEL, FEBENDAZOLE, IVERMECTINA Y LEVAMISOLE) EN *Haemonchus spp* PARASITANDO A OVINOS EN LA PROVINCIA DE SANTA FE

Anziani, O.S.¹; Muchiut, S.²

¹EEA INTA Rafaela; ²Facultad Ciencias Veterinarias, UNL

Introducción

El objetivo del presente estudio es actualizar e incrementar el conocimiento de los fenómenos de resistencia a los antihelmínticos por nematodos de ovinos en el área central de la Argentina. Este es el primer informe para la provincia de Santa Fe sobre *Haemonchus spp* con resistencia antihelmíntica múltiple (closantel, levamisol, ivermectina y bencimidazol) y en este contexto se informa también sobre las fallas en el control de esta población parasitaria con la aplicación simultánea de tres de estas drogas (levamisol+bencimidazol+ ivermectinas).

Materiales y Métodos

Se utilizó el test de reducción en el conteo de huevos (TRCH) para determinar la eficacia de diversas drogas frente a *Haemonchus spp* con antecedentes de resistencia a ivermectina (EEA INTA Rafaela, datos no publicados). Veinticuatro corderos fueron asignados a tres grupos de tratamientos de acuerdo al número de huevos de nematodos en la materia fecal (hpg) = 1) levamisol (8 mgr/kg, sc), 2) febendazol (5 mgr/kg, oral) y 3) closantel (10 mgr/kg, oral). Ante la falta de eficacia, los

animales fueron nuevamente tratados con moxidectina (200 mcg/kg,sc) o una triple combinación (levamisol 8 mgr/kg de peso, sc + febendazol 5 mgr/kg, oral + ivermectina 200 mcg/kg, sc). El TRCH se realizó utilizando la siguiente fórmula $TRCH = 100 \times (1 - T2/T1)$ en donde T2 y T1 representan el promedio de los huevos de nematodos por gramo de heces (hpg) en las muestras de materia fecal post y pre tratamiento respectivamente de los mismos animales (1). En casos donde el hpg de un grupo se incrementó luego del tratamiento, el % del TRCH fue considerado como cero.

Resultados

El promedio, el desvío estándar y el rango del hpg antes y luego del tratamiento así como el porcentaje de reducción observado en la primer y segunda experiencia son presentados en las Tablas 1 y 2 respectivamente. En ambas experiencias todas las larvas obtenidas en los cultivos de las muestras pre y post tratamiento pertenecieron al género *Haemonchus spp*.

Tabla 1. Reducción del hpg (promedio, desvío estándar y rango) en corderos parasitados por *Haemonchus spp* y tratados con levamisol, febendazol y closantel.

Tratamiento	n	Dosis / vía	Hpg día 0	Hpg día 7	TRCH (intervalos de confianza)
Levamisol	9	8 mg / kg / sc	1.210 ± 1008 ^a (150-1.860)	330 ± 380 ^a (100-1.360)	72,7 % (39-87)
Febendazol	9	5 mg / kg / oral	995 ± 880 ^a (280-1.600)	1.620 ± 1120 ^b (150-1.400)	0
Closantel	9	10 mg / kg / oral	970 ± 802 ^a (320-1.320)	1.220 ± 1242 ^b (150-1.460)	0

^{a, b} letras diferentes en igual columna difieren significativamente ($p < 0,05$, test de Kruskal Wallis)

Tabla 2. Reducción del hpg (promedio, desvío estándar y rango) en corderos parasitados por *Haemonchus* spp y tratados simultáneamente con tres antihelmínticos o con moxidectina.

Tratamiento	n	Dosis / vía	Hpg día 0	Hpg día 14	TRCH (intervalos de confianza)
Levamisol Febendazol Ivermectina	12	8 mg / kg / sc 5 mg / kg / oral 0.2 mg / kg / sc	1.020 ± 980 ^a (150-4.520)	335 ± 428 ^a (0-1.440)	67,1 % (41-88)
Moxidectina	13	0.2 mg/ kg / sc	1.228 ± 1116 ^a (150-3.280)	235 ± 405 ^b (0-1.240)	80,9 % (61-93)

^{a, b} letras diferentes en igual columna difieren significativamente ($p < 0,05$, test de Wilcoxon)

Discusión y Conclusiones

Los resultados del primer TRCH muestran que el febendazol y el closantel fueron totalmente inefectivos para controlar este aislamiento de *Haemonchus* spp y que el 75 % de reducción observado con el levamisol también es indicativo de la falta de eficacia de esta droga ya que los antihelmínticos efectivos producen reducciones de al menos el 95 % en el TRCH. Si bien el febendazol y el levamisol habían sido utilizados anteriormente y en forma masiva sobre esta majada, de particular interés es la ineficacia del closantel con el cual no existían antecedentes de uso en la misma. Sin embargo debería considerarse que la constitución original de esta majada se realizó con animales de diferentes orígenes y probablemente esta situación y/o el ingreso en los años posteriores de reproductores portando genes resistentes a esta droga podría haber resultado en el desarrollo de aislamientos o cepas de parásitos resistentes a este u otros antihelmínticos. La moxidectina y la ivermectina son lactonas macrocíclicas pero el desarrollo de resistencia no es idéntico. Bajo condiciones de campo y a la dosis recomendada, la moxidectina puede mostrar mayor eficacia, frente a *Haemonchus* spp con resistencia a ivermectina. En este estudio la moxidectina mostró la mayor eficacia relativa, pero inferior al "cut off" de 95% recomendado. La administración simultánea de febendazole, levamisole e ivermectina no mejoró la eficacia observada independientemente con al menos las dos primeras drogas. Este es el primer informe de un aislamiento de *Haemonchus* spp con resistencia a múltiples antihelmínticos parasitando a ovinos en la provincia de Santa Fe. Si bien la combinación de antihelmínticos con diferente modo de acción está siendo impulsada en muchos países, la información disponible aún presenta inconsistencias sobre los potenciales efectos aditivos o sinérgicos de estas combinaciones.

La eficacia de las combinaciones podría llegar a ser justificada para demorar la aparición de resistencia antes de que esta sea detectable. Sin embargo y de acuerdo a los datos de la presente experiencia, la utilidad de estas combinaciones es reducida en presencia de altos niveles de resistencia y enfatiza en la necesidad de cumplir con una serie de requisitos o condiciones previas para justificar su uso generalizado. En este contexto cada establecimiento debería conocer previamente su *status* de resistencia y esta información debería ser crítica para la elección de los antihelmínticos a utilizar.

Bibliografía

- Dobson RJ.; Hosking BC.; Jacobson CL.; Cotter JL.; Bessier RB.; Stein PA.; Reid SA. 2012. Preserving new anthelmintics: a simple method for estimating faecal egg count reductions test (FECRT) confidence limits when efficacy and/or nematodos aggregation is high. *Veterinary Parasitology*. 186:79-92.
- Prichard R.; Ménez C.; Lespine A. 2012. Moxidectin and the avermectins: Consanguinity but not identity. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*. 2:134-153.
- Anziani OS.; Caffé G.; Aguilar S.; Cervilla N.; Litterio N.; Boggio J. 2008. Eficacia de la moxidectina en el control de aislamientos de *Haemonchus* spp resistentes a la ivermectina en cabras. *XVIII Jornadas Argentinas y XIII Jornadas Latinoamericanas de Fármaco-Toxicología*. Buenos Aires.
- Entrocasso C., Alvarez L., Mananzza J., Lifschitz A., Borda B., Virkel G., Mottier L., Lanusse C. 2008. Clinical efficacy assesment of the albendazole – ivermectin combination in lambs parasitized with resistant nematodes. *Veterinary Parasitology*. 155:249-256.

RESISTENCIA ANTIHELMINTICA EN ESTABLECIMIENTOS PRODUCTIVOS OVINOS EN LA REGIÓN SEMIÁRIDA PAMPEANA

Cristel, S.L.
Grupo de Sanidad Animal. INTA EEA Anguil

Introducción

La resistencia antihelmíntica (RA) se define como la capacidad heredable de los parásitos de sobrevivir a tratamientos con drogas antihelmínticas que a dosis terapéuticas normalmente causan la inhibición del crecimiento o muerte del parásito. Los parásitos gastrointestinales de los ovinos ocasionan importantes pérdidas económicas, actualmente el control de los mismos se basa casi exclusivamente en la administración de drogas antihelmínticas. En Argentina la presencia de resistencia antihelmíntica (RA) en establecimientos agropecuarios es cada vez más elevada. La alta frecuencia de tratamientos es la principal causa generadora de este fenómeno en sistemas productivos ovinos. Estudios realizados anteriormente a mediados de los noventa han mostrado RA frente a los antihelmínticos, en principio benzimidazoles, levamisol e ivermectina sobre todo en la región litoral de Argentina. Trabajos posteriores demostraron un aumento de la RA en la misma zona pero con un marcado aumento de la resistencia frente a la ivermectina y un aumento de la resistencia general en las majadas de la provincia de Buenos Aires. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la resistencia antihelmíntica en establecimientos productivos ovinos en la región semiárida pampeana frente a cuatro drogas antihelmínticas: ivermectina (IVM), benzimidazol (BZD), closantel (CLS) y levamisol (LVM).

Materiales y Métodos

El porcentaje de eficacia se determinó en 7 establecimientos ovinos de la región semiárida pampeana a través de la prueba de reducción del conteo de huevos (PRCH) la cual se llevó a cabo a partir de corderos de destete de 6 a 12 meses de edad, infestados con nematodos gastrointestinales naturalmente a campo y con un mínimo promedio de 200 hpg. El conteo de huevos por gramo de heces (hpg) se realizó según técnica McMaster modificada por Roberts y O'Sullivan (1949). Además se llevaron a cabo la recuperación, diferenciación por género y conteo de larvas infestantes (L3) a partir de las muestras de los distintos grupos por medio de coprocultivos por técnica de Suárez (1997) para la identificación de los géneros de nematodos involucrados en la resistencia. Se conformaron 5 grupos de 15 ovinos cada uno: un Grupo Tratado T para

cada droga probada y un Grupo Control C (sin tratamiento) y se llevaron a cabo 2 muestreos de materia fecal: el día 0 del tratamiento: 1 y el día 14 postratamiento: 2. Los valores de eficacia se obtuvieron mediante el método de WAAVP: $PRCH=100(1-[T2/C2])$, donde T2= media aritmética de hpg del grupo tratado el día 14 post-tratamiento y C2= media aritmética de hpg del grupo control el día 14. Se consideró como resistencia a porcentajes de reducción del conteo de huevos <95%, y susceptibles cuando los mismos fueron \geq al 95%.

Resultados

La evaluación de la eficacia de antiparasitarios demostró que de los 7 establecimientos ovinos evaluados 6 campos (85.7%) presentaron resistencia al menos hacia uno de los antihelmínticos evaluados y solo 1 establecimiento presentaba susceptibilidad a todas las drogas probadas. Se halló RA a ivermectina (IVM) en 5 establecimientos (71.4%) siendo *Haemonchus* el principal género involucrado. Los valores de eficacia según WAAVP oscilaron entre 0-87.5% para este principio activo. En 4 establecimientos (57.1%) se halló resistencia a benzimidazoles (BZD), el rango de eficacias en este caso varía entre 25.5–87.5%, el único género resistente a esta droga fue *Haemonchus*. Por otro lado se evidenció RA conjunta a IVM y BZD en 3 establecimientos (42.8%) del total de campos evaluados. CLS y LVM fueron los principios activos que no presentaron resistencia en ninguno de los establecimientos evaluados. Los porcentajes de eficacia promedios para ambos compuestos fueron de 98% y 99.37% respectivamente. El género predominante presente en todos los rodeos que presentaron tanto resistencia a BZD como a IVM fue *Haemonchus contortus*.

Tabla 1. Número de campos con reducción del conteo de huevos <95% y porcentajes de eficacia promedio de los antihelmínticos

Droga	N° campos RCH < 95%	% campos RCH < 95%	% eficacias promedios y rangos
IVM	05/7	71.4	58.4 ± 36.2 (0 – 87.5)
BZD	04/7	57.1	52.2 ± 31.9 (25,5 – 90,1)
CLS	0/7	0	98.0 ± 1.5 (96 – 100)
LVM	0/7	0	99,3 ± 0.7 (98,2 – 100)

Ref. Tabla 1: RCH: Reducción del conteo de huevos, IVM: ivermectina, BZD: benzimidazoles, CLS: closantel, LVM: levamisol

Discusión

Según los resultados obtenidos, el porcentaje de establecimientos con ineficacia al menos hacia una de las drogas evaluadas es alto. La frecuencia de dosificaciones ha sido identificada como uno de los factores más importantes en el desarrollo de resistencia y en general se realiza un uso excesivo de los antihelmínticos sin responder a fundamentos epidemiológicos o sin un diagnóstico parasitológico adecuado. Los resultados del presente trabajo junto a estudios anteriores realizados en otras regiones lleva a considerar que la RA ha crecido considerablemente en el país. Un estudio anterior realizado en diversas provincias de Argentina indicaba que un 62% de las majadas presentaban poblaciones de nematodos con RA, como en la provincia de Bs. As por ejemplo, mientras que un 100 % de los establecimientos presentaron RA en la provincia de Corrientes. En el presente estudio un 85,7% de los establecimientos evaluados presentaron resistencia al menos a uno de los principios activos y en solo un establecimiento (14,2%) se observó susceptibilidad a todas las drogas probadas. Con respecto a la RA a BZD se halló resistencia en 57.1% de las majadas, con un rango de eficacias que en este caso varía entre 25.5 – 87.5%, hallándose aún con valores de resistencia por debajo de los antecedentes en la región noreste del país en la década del 90 donde se observaba que 82% de los establecimientos evaluados era resistente a BZD. Los valores de resistencia antihelmíntica combinada en el caso de IVM-BZD es del 42,8%. En estudios anteriores la escala de resistencia combinada se encontraban por encima del 20% de los establecimientos, los cuales presentaban resistencia al uso combinado de benzimidazoles y levamisol.

Por otro lado el porcentaje de RA a IVM, con un porcentaje promedio de eficacia de 58.4% y un rango de la misma de 0 a 87.5% se evidenció en 5/7 (71.4%) de las majadas, valor relevante comparado con el 50% registrado en 2005 (Caracostantogolo *et al.*, 2005) y demuestra que la RA a ivermectina se ha generalizado debido a su uso masivo en las últimas décadas. Cabe remarcar la eficacia del CLS y LVM en cuyos casos sus altos porcentajes de eficacia superiores al 98% contrastan con los reportes pertenecientes a otras provincias, en especial Corrientes, donde el 55% de los campos tenía resistencia al LVM y CLS. Esto se atribuye al escaso uso de dichas drogas en los sistemas productivos ovinos de la región. Este hecho destaca la importancia de estos principios activos en la región semiárida pampeana dando lugar a la oportunidad de usarlos adecuadamente en el futuro planteo del control parasitario. Esto es de suma importancia

teniendo en cuenta el contexto actual de la RA en la producción ovina, donde la resistencia a los antihelmínticos está tan instalada y generalizada sobre todo en los establecimientos ovinos del noreste argentino donde los distintos géneros parasitarios presentan resistencia a ivermectina, benzimidazoles, levamisol y closantel. Para un uso racional de los antihelmínticos es necesario contar con un diagnóstico parasitológico en base a hpg y coprocultivos para que las desparasitaciones respondan a un conocimiento epidemiológico adecuado por parte del profesional veterinario.

Conclusiones

En base a los resultados obtenidos se puede considerar que la resistencia antihelmíntica está instalada en los diferentes sistemas productivos ovinos de la región semiárida pampeana. Hasta el momento más del 85% de los establecimientos muestreados presentan resistencia. El grado de RA de *Haemonchus contortus* a ivermectinas y benzimidazoles es preponderante y se deben profundizar los estudios a nivel regional para evaluar con mayor precisión la participación del resto de los géneros parasitarios frente a todos los grupos químicos en la problemática de la RA. El closantel y levamisol mantienen por el momento su eficacia en esta región, posicionando estas drogas en un lugar privilegiado para mantener sustentables los programas de control parasitario.

Bibliografía

- Caracostantogolo J., Castaño R., Cutullé Ch., Cetrá B., Lamberti R., Olaechea F., Ruiz M., Schapiro J., Martínez M., Balbiani G., Castro M. 2005. Evaluación de la Resistencia a los antihelmínticos en rumiantes en Argentina. En: Resistencia a los antiparasitarios internos en Argentina. FAO. Roma. pp. 7-34.
- Coles G.C., Bauer C., Borgsteede F.H., Geerts S., Klei T.R., Taylor M.A., Waller P.J. 1992. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology* 44: 35-44.
- Cristel S.L. Suárez V.H. 2008. Resistencia Antihelmíntica en ovinos en la región semiárida pampeana. *Investigación en Producción Animal 2006 Región subhúmeda y semiárida Pampeana. Boletín de Divulgación Técnica N° 94 EEA INTA Anguil.*
- Eddi, C., Caracostantogolo, J., Peña, M., Schapiro, J., Marangunich, L., Waller, P., Hansen, J.W. 1996. The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasite of sheep in Southern Latin America: Argentina. *Vet. Parasitol.*, 62: 189-197
- Romero J., Boero G., Aristizábal M., Baldo A., y Vásquez R. 1998. Estudio de resistencia a antihelmínticos en majadas de la mesopotamia argentina. *Rev Med. Vet* 79 (5): 342-346.

RECUPERACIÓN DE LA EFICACIA EN *Haemonchus contortus* POR REEMPLAZO DE LAS POBLACIONES PARASITARIAS Y MANEJO DE REFUGIO

Muchiut, S.¹; Fernández, S.^{1,2}; Steffan, P.¹; Lloberas, M.³; Luque, S.²; Cardozo, P.³; Bernat, G.⁴; Riva, E.^{1,4}; Fiel, C.¹
¹FCV, UNCPBA, Tandil; ²CONICET; ³EAA-INTA Balcarce; ⁴CIC, Tandil

Introducción

El control de las enfermedades parasitarias basado en la aplicación continuada de principios activos de amplio espectro no resulta sostenible en el mediano y largo plazo (Nari, 2003). En nuestro país, durante la última década la eficiencia del control de las infecciones parasitarias se vio afectada por varias circunstancias entre ellas, la resistencia antihelmíntica como consecuencia de la utilización de los mismos principios activos durante más de 30 años y de manera irracional (Steffan *et al.*, 2012). Los principales factores que influyen sobre la selección de genes resistentes son la frecuencia de los tratamientos y la proporción de parásitos en refugio (Fiel *et al.*, 2001, Nari 2003). Se denomina población en refugio a la proporción de parásitos que no se encuentra sujeta a selección por los tratamientos químicos, mayoritariamente en la fase de vida libre, y por lo tanto, cuanto mayor es la proporción de la población que se encuentra en las pasturas, menor es la selección por resistencia (Sangster, 2001). En tal sentido, la descendencia de los individuos que sobreviven a un tratamiento podrán diluirse o por el contrario constituirse en una parte importante de la próxima generación parasitaria de acuerdo a la mayor o menor abundancia de las poblaciones en refugio. El incremento de la población en refugio podría constituir un aspecto fundamental en el manejo de la resistencia y la posibilidad de diluir los genes resistentes por la introducción de nematodos susceptibles. La relevancia epidemiológica de este proceso está basada en el enorme potencial biótico de los parásitos, que permitiría cambiar rápidamente la composición genética del refugio (Nari, 2003). Teniendo en consideración estos factores, el objetivo del presente trabajo fue recuperar la eficacia del fenbendazol (FBZ) en poblaciones de *H. contortus* resistentes a este fármaco mediante el manejo del refugio y la introducción de corderos infectados artificialmente con nematodos susceptibles a los benzimidazoles (BZMs).

Materiales y Métodos

El estudio se llevó a cabo en un campo experimental ubicado en el sudeste de la

provincia de Buenos Aires, Argentina, donde la eficacia clínica de FBZ en la población total de parásitos y la eficacia absoluta de FBZ en *H. contortus* fueron de 82,2% y 0% respectivamente.

En el primer año se utilizaron 40 corderos Corriedale y Texel que se colocaron en una pastura infestada naturalmente con *H. contortus* resistente a BZMs. Se llevó a cabo un programa de control parasitario basado en el conteo de huevos en materia fecal (HPG) cada dos semanas y se realizaron tratamientos antiparasitarios cuando se consideró necesario, con el propósito de disminuir la población de larvas en el pasto. Se utilizaron fármacos muy eficaces como el Monepantel y Derquantel + Abamectina, en forma alternada, para asegurar el éxito del tratamiento y no realizar una selección de genes resistentes relacionados con los BZMs. En el segundo año, 42 nuevos corderos se inocularon por vía oral con 3000 larvas infestivas de *H. contortus* susceptible a BZMs y se colocaron en el potrero donde se habían alojado la majada experimental el año anterior, lo que permitió a la cepa susceptible a BZMs establecerse como refugio. Además, se llevó a cabo un programa de control de nematodos mediante HPG y FAMACHA® para evaluar la necesidad del tratamiento individual con levamisol y exclusión de los cálculos. Para evaluar la eficacia clínica y la absoluta de FBZ se realizó un Test de reducción del conteo de huevos (TRCH) y un test de eficacia controlada (TEC) según los lineamientos de la World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) a los 16 meses post inoculación con la cepa susceptible.

Resultados

En el Gráfico 1 se observan los valores de HPG durante el primer año del trabajo, en donde se realizaron 8 tratamientos antiparasitarios con el fin de reducir la cantidad de larvas infestivas en el refugio, poniendo énfasis en los últimos meses del año y disminuir el pie de infección. En el Gráfico 2 se observan los valores de HPG durante el segundo año, momento en que ocurrió el establecimiento de la cepa susceptible de *H. contortus* en el potrero experimental.

A los 16 meses post inoculación los valores de eficacia clínica para FBZ fueron de 50,6 % para la población total de nematodos, mientras que para *H. contortus* el valor ascendió a 97,8 %.

Los nematodos intestinales *Nematodirus spathiger* y *Trichostrongylus colubriformis* permanecieron resistentes a FBZ al final del estudio, con eficacias de 27,9 % y 0 % respectivamente.

Gráfico 1. Valores de HPG y tratamientos durante el manejo del refugio del primer año.

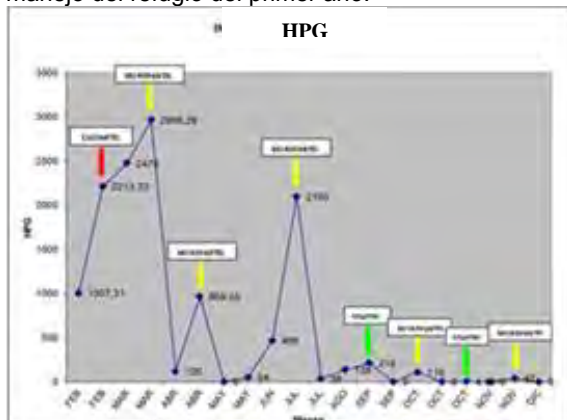
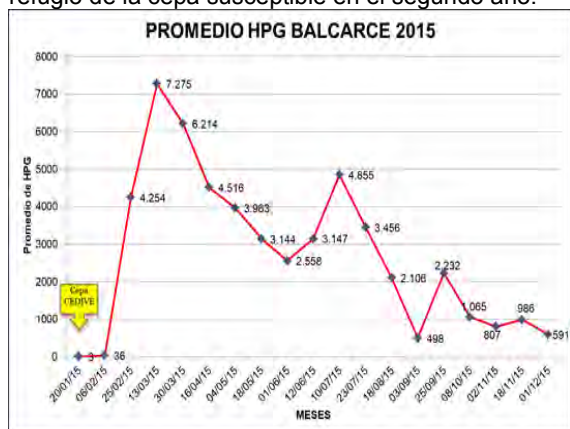


Gráfico 2. HPG durante el establecimiento del refugio de la cepa susceptible en el segundo año.



Discusión

Los niveles de HPG obtenidos durante el primer año demuestran que el control parasitario realizado, con énfasis en la segunda parte del año, fue eficaz para disminuir el refugio en la pastura del potrero donde se llevó a cabo el estudio. Esta medida fue decisiva para permitir la implantación de la cepa susceptible al segundo año, tal como se mostró en el Gráfico 2., y esto probablemente se deba a la disminución del pie de infección y por lo tanto disminución de competencia en el refugio entre las cepas susceptibles y resistentes. Resultó fundamental mantener un monitoreo permanente mediante HPG y FAMACHA® en los animales, que sumado al conocimiento epidemiológico contribuyó a evitar la presentación clínica de la enfermedad y mantener la infestación del potrero en forma controlada. Los valores del TRCH y TEC inicial y final demuestran que el recambio de cepa de *H. contortus* resistente por susceptible puede lograrse y ser exitoso.

Conclusión

Las infecciones experimentales de los corderos con *H. contortus* susceptibles a los BZMs fueron exitosas. Los niveles altos del TEC así como los resultados de los coprocultivos e infectividad de la pastura confirmaron el establecimiento de un nuevo refugio dominado por el *H. contortus* susceptible incoculado. Tanto los resultados de FECRT como los de TEC demostraron un retorno progresivo y significativo de la eficacia de los BZMs durante el periodo de estudio. Estas observaciones confirman la posibilidad de que una población de parásitos resistentes sea reemplazada por una susceptible a través de la inoculación apropiada de especies susceptibles de *H. contortus*. El conocimiento y la explotación de la ecología y epidemiología del parásito es un componente clave del éxito con este potencial y los resultados de este estudio fomentan la continuación de esta línea de investigación para encontrar una alternativa práctica para la recuperación de la eficacia de los BZMs en los sistemas de producción de pastoreo.

El presente trabajo demuestra que es posible mitigar el fenómeno de la resistencia antihelmíntica a través del manejo del refugio larvario y la sustitución de una población de nematodos resistentes por susceptibles.

Bibliografía

- Nari, A. 2003. Control integrado de parásitos, En: FAO Producción y Sanidad Animal (Ed.) Resistencia a los Antiparasitarios: Estado actual con énfasis en América Latina. Roma, 18-32.
- Steffan, P.E., Fiel, C.A., Ferreyra, D.A. 2012. Endoparasitosis más frecuentes de los rumiantes en sistemas pastoriles de producción. Aspectos básicos de consulta rápida. 112p.
- Fiel, C.A., Anziani, O., Suárez, V., Vázquez, R., Eddi, C., Romero, J., Caracostantógolo, J., Saumell, C., Mejía, M., Costa, J., Steffan, P. 2001. Resistencia antihelmíntica en bovinos: causas, diagnóstico y profilaxis. Veterinaria Argentina. 18: 21-33.
- Sangster, N.C. 2001. Managing parasiticide resistance. Veterinary Parasitology. 98: 89-109.

FAMACHA Y SU RELACIÓN CON EL VALOR DEL HEMATOCRITO Y HPG EN CABRAS DE SAN LUIS

Rossanigo C. E. y Page W. P.
INTA EEA San Luis.

Introducción

Dentro de las enfermedades que ocasionan un gran deterioro en la producción caprina, las parasitosis internas tienen una importancia preponderante, especialmente las producidas por nematodos gastrointestinales. *Haemonchus contortus* es la especie dominante en Argentina y de mayor importancia por las pérdidas que ocasiona. No produce diarrea pero sí anemias con mortandad, especialmente en los meses cálidos y lluviosos de la primavera-verano. La presentación de síntomas clínicos y el deterioro productivo generalmente ocurre en una fracción de animales sensibles que al interior de la majada concentra elevada carga de este parásito. Malan y Van Wyk (1992), observaron la existencia de correlación entre el color de la conjuntiva ocular, valor del hematocrito y nivel de infestación por *Haemonchus contortus*. Este hallazgo permitió desarrollar el método de control parasitario conocido como FAMACHA® (FAM), mediante el cual en los animales clasificados como sensibles el color de la conjuntiva ocular oscila desde rosado hasta blanco, mientras que en los resistentes va del rojo al rosado. El objetivo del presente estudio fue evaluar la detección de cabras anémicas por *Haemonchus* mediante FAM en un típico sistema caprino de San Luis en los meses del verano

Materiales y Métodos

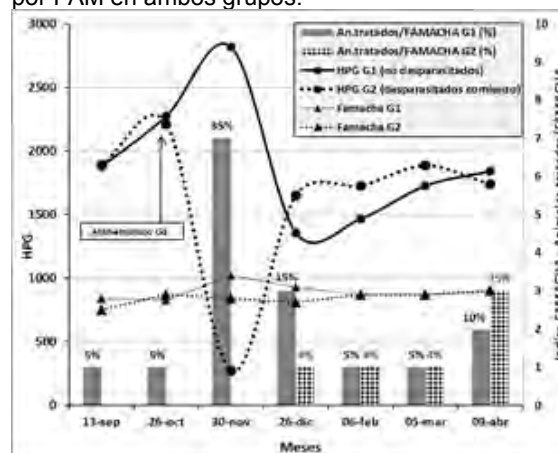
El estudio se llevó a cabo en un establecimiento de producción de cabritos ubicado en Villa Mercedes (SL), a partir de una majada de 550 cabras tipo criollo Sanluisense cruzadas predominantemente con Anglo Nubian, mantenidas en una cadena forrajera de pasturas diversas. El ensayo se realizó durante los meses estivales (octubre 2013 a abril 2014) que registraron una temperatura media promedio de 19, 8° y una precipitación total de 907 mm. Las observaciones se realizaron sobre dos grupos de 22 animales: el grupo 1 (G1) sin desparasitar al comienzo del ensayo y el grupo 2 (G2) desparasitado al comienzo de la estación estival (manejo del establecimiento) con Ricobendazol al 15 %, ajustada a una dosis caprina de 2 ml/40 Kg, equivalente a 7,5 mg/kg. Mensualmente las cabras fueron muestreadas de heces para determinar la cantidad de

huevos de nematodos por gr de materia fecal (Hpg) empleando la técnica de Mc Master modificada y la identificación de los géneros mediante coprocultivos. A partir de sangre con heparina obtenida de la punción yugular se determinó el hematocrito (Hem) de cada cabra en ambos grupos. Paralelamente se determinó la condición corporal (CC) individual a través de una escala de 1 a 5 y se observó el color de la mucosa de la conjuntiva ocular de acuerdo a la graduación de colores FAM con cinco grados: 1) rojo, sin anemia; 2) rojo claro, sin anemia; 3) rosado, casi anémica; 4) rosada blanquecina, con anemia; 5) blanco porcelana, con anemia severa. Los animales con los grados 4 y 5 fueron desparasitados con la misma droga y dosis antes descripta. Los datos obtenidos fueron procesados mediante análisis de la varianza con modelos mixtos para modelar la variabilidad dentro de FAM y la diferencia entre n (tamaño de muestra) (Software estadístico Infostat/P 2013). Se calculó la sensibilidad y la especificidad (corte de hematocrito de ≤ 19 como indicador de anemia). La relación existente entre los grados de FAM, el hematocrito y los HPG se estimó mediante los coeficientes de correlación.

Resultados

Los coprocultivos demostraron un predominio de larvas de *Haemonchus* superior al 64% promedio del período. La Figura 1 muestra la evolución media de los Hpg, grado de FAM y animales tratados por FAM en ambos grupos.

Figura 1. Evolución hpg, FAM y animales tratados por FAM en ambos grupos.



Los resultados de los Hem, Hpg y CC de ambos grupos de acuerdo a FAM se observan en la Tabla 1. Las correlaciones entre FAM y Hem fue de $r = -0,56$ y $r = -0,50$, entre FAM y

Hpg $r = 0,46$ y $r = 0,29$ y entre FAM y CC $r = -0,53$ y $r = -0,33$ respectivamente para G1 y G2. En la Tabla 2 se observa la sensibilidad y especificidad de la metodología FAM.

Tabla 1. Valores Hem, Hpg y CC de ambos grupos según FAM.

	FAM	Hem			HPG		CC	
		n	Media	DE	media	DE	media	DE
G1	5	3	18,1 a	1,1	4400 a	682	2,1 a	0,1
	4	13	20,6 b	2,2	4498 a	1564	2,2 a	0,2
	3	102	29,3 c	4,1	1607 b	1284	2,6 b	0,3
	2	22	31,4 d	3,8	1439 b	1260	2,8 c	0,2
	1	0	--	---	--	--	--	---
	Media	140	28,6	4,9	1909	1587	2,6	0,3
G2	5	1	12,3 a	---	5200 a	--	2,0 a	---
	4	5	16,9 a	3,5	4464 a	529	2,1 a	0,1
	3	112	28,1 b	4,4	1570 b	1023	2,6 b	0,3
	2	40	31,1 c	6,3	1356 b	139	2,7 c	0,3
	1	0	--	---	--	---	--	---
	Media	158	28,4	5,3	1623	1362	2,6	0,3

Medias: letras diferentes indican que son significativamente diferentes ($p < 0,05$)

Tabla 2: Sensibilidad y especificidad según grado FAM.

	FAMACHA +	Sensibilidad	Especificidad
G1	Grado 3, 4 y 5	100	17
	Grado 4 y 5	88	93
G2	Grado 3, 4 y 5	100	74
	Grado 4 y 5	83	99

Discusión y Conclusiones

Los grados de FAM 2 y 3 fueron los más numerosos y con hematocritos más alto que los de la bibliografía, mientras que los grados 4 y 5 se encontraron dentro de los parámetros de hematocritos anémicos. Al considerar los grados 4 y 5 la metodología FAM mostro alta capacidad (sensibilidad) en la detección de enfermos y alta capacidad en la detección de sujetos sanos (especificidad). Al final del estudio se observó la misma carga de Hpg entre los grupos, a pesar que G1 utilizó un 30% menos de antihelmíntico respecto a G2.

El uso de FAMACHA en caprinos constituye una herramienta de gran utilidad para el control de la haemoncosis, ya que permite detectar y desparasitar a los animales del rebaño que se manifiestan como más sensibles a los *Haemonchus* (Tratamientos selectivos).

Bibliografía

- Anziani, O.S.; Caffé, G.; Cooper; L.; Caparros, J.; Mohn, C. y Aguilar S. (2010). Parásitos internos y caprinos de leche. Parte 2. Estudios sobre la resistencia de los nematodos gastrointestinales a los antihelmínticos. Ficha Técnica n°15, Proyecto lechero, www.inta.gov.ar/lecheheria.
- Suarez, V.H.; Fondraz, M., Viñabal, A.E., Martínez, G.M., Salatin, A.O. y Alfaro, J.R. (2014). Evaluación del sistema de control de nematodos gastrointestinales FAMACHA® en caprinos en el NOA. Vet. Arg. – Vol. XXXI – N° 313.
- Van Wyk, J. y Bath, G. (2002). The Famacha system for managing haemonchosis in sheep and goats by clinically identifying individual animals for treatment. Veterinary Research; 33: 509-529.

EVALUACIÓN ANTIHELMÍNTICA *In vitro* DE EXTRACTOS VEGETALES DE ESPECIES AUTÓCTONAS DEL NORTE ARGENTINO

Schapiro, J.^{1,2}; Morici, G.^{1,2}; Di Ciaccio, L.^{1,3}; Bruttomesso, M.^{1,2,3}; Salvat, A.¹; Fortunato, R.^{3,4,5}
¹Instituto de Patobiología, INTA Castelar; ²Cátedras de Parasitología Universidad del Salvador; ³CONICET
⁴Instituto de Recursos Biológicos, INTA Castelar; ⁵Facultad de Agronomía y Ciencias Alimentarias, Universidad de Morón

Introducción

Las infecciones por nematodos gastrointestinales están ampliamente distribuidas y se consideran una de las principales causas de pérdidas en producción. En las últimas décadas el control antiparasitario se basó casi exclusivamente en el uso de drogas antihelmínticas cuyo uso frecuente, indiscriminado, y carente de criterio epidemiológico, condujo a la selección de poblaciones de nematodos resistentes. Esta resistencia a los antiparasitarios se encuentra ampliamente distribuida y en algunos lugares torna ineficiente la producción animal, tal es el caso de establecimientos en donde hay ausencia de respuesta al tratamiento frente a todos los grupos químicos. Esta situación amerita plantear cambios en el modo de uso, así como también desarrollar herramientas alternativas o complementarias al control químico. En este sentido, la investigación de extractos de plantas para el control de parásitos en medicina veterinaria tuvo un crecimiento notorio en los últimos 25 años y desde entonces existe un marcado interés para considerarlo dentro de las estrategias no químicas para el control. Estas plantas son denominadas bioactivas, ya que una gran variedad de ellas como sus extractos, contienen compuestos químicos capaces de producir variados efectos terapéuticos, entre los que se informó sobre su capacidad como nematodocidas. El objetivo de este trabajo fue evaluar *in vitro* el efecto antihelmíntico de extractos de vegetales (EV) de especies nativas del norte de Argentina sobre los estadios de huevo y larvas infectivas de una cepa pura de *Haemonchus contortus* que es considerado el nematodo más patógeno que afecta a los ovinos, con el fin de poder seleccionar posibles candidatos que puedan sumarse al control de parásitos. Para ello se efectuaron el "test de inhibición de la eclosión de huevos" (egg hatching test -EHA-) y el "test de inhibición de migración larval" (larval migration inhibition assay -LMIA-).

Materiales y Métodos

Plantas y extractos vegetales: En las regiones áridas y semiáridas del norte argentino se efectuó una recolección de diferentes familias de especies de plantas nativas en la búsqueda de principios activos de interés medicinal. Se

recolectaron 5 kg de material fresco de distintas partes de una misma especie (raíz, ramas, hojas, flores, frutos y corteza), se desecaron a temperatura ambiente y fueron molidas. La separación de cada parte de la planta tiene el objetivo de evaluar separadamente los efectos que puedan poseer. Para preparar los extractos se realizó una extracción con metanol y se conservó en dimetilsulfóxido (DMSO).

Ensayos:

En este trabajo se llevaron a cabo 2 series de ensayos *in vitro* utilizando una cepa pura de *H. contortus*. El primero es una modificación del test de inhibición en la eclosión de huevos utilizado para evaluar la resistencia antihelmíntica a los benzimidazoles y consistió en incubar una cantidad conocida de huevos de *Haemonchus contortus* de pocas horas de eliminados (frescos, no larvados) frente a concentraciones seriadas de extractos con potencial actividad antihelmíntica con el fin de evaluar su capacidad para inhibir la eclosión de huevos (Foto 1). El segundo, se basó en medir la capacidad migratoria de las larvas infectivas (L3) a través de una malla de 28 μm luego de haber estado en incubación con concentraciones seriadas de un extracto vegetal (Demeler 2010). En ambos casos se evaluaron por triplicado 6 concentraciones de cada extracto vegetal, un control negativo y un control del efecto del DMSO. El soporte utilizado fueron placas estériles de cultivo celular multipocillos Falcon™ (de 24 pocillos) de fondo plano con tapa.

Foto 1: Técnica de inhibición en la eclosión de huevos. Observación con el microscopio invertido de un pocillo con huevos enfrentados con una solución de extracto vegetal



Resultados

El material biológico que mostró bioactividad crece de las provincias de Jujuy, Salta, Formosa, Chaco y Santiago del Estero.

Test de inhibición en la eclosión de huevos: se evaluaron 53 extractos vegetales, y se observó una clara respuesta dosis dependiente, dado que a las más altas concentraciones (62,5 µg/ml) demostraron tener mejor efecto alcanzando valores de 25% de inhibición de la eclosión de huevos. En la Tabla 1 se presentan discriminados por Familias las diferentes cantidades de EV que obtuvieron porcentajes de inhibición superior al 25% en las concentraciones más altas.

Tabla 1. Cantidad de EV con porcentaje de inhibición en la eclosión de huevos superior al 25% en las concentraciones más altas.

Familia	EV con inhibición >25%	Total de EV estudiados (n=53)
<i>Rubiaceae</i>	5	7
<i>Solanaceae</i>	4	20
<i>Zygophyllaceae</i>	4	8
<i>Polygonaceae</i>	0	4
<i>Leguminoaseae</i>	6	11
<i>Bignoniaceae</i>	1	2
<i>Anacardiaceae</i>	1	1

Tabla 2. Cantidad de EV con porcentaje de inhibición en la migración larval superior al 25%.

Familia	EV con inhibición >25%	Total de EV estudiados (n=50)
<i>Solanaceae</i>	0	2
<i>Leguminoaseae</i>	5	41
<i>Bignoniaceae</i>	0	2
<i>Anacardiaceae</i>	0	1
<i>Lamiaceae</i>	0	1
<i>Euphorbiaceae</i>	0	3

Test de inhibición en la migración larval: se observó en microscopio invertido y se contabilizaron las larvas que migraron y las que no pudieron hacerlo. Finalmente se calculó el porcentaje de larvas no migradas con respecto al número total de larvas. Los resultados obtenidos concuerdan con lo observado en el test EHA en cuanto a que los porcentajes de inhibición de los 50 extractos vegetales estudiados se incrementaron con el aumento de las concentraciones, evidenciándose una clara respuesta dosis dependiente. En la Tabla 2 se presentan discriminados por Familias las diferentes cantidades de EV estudiadas en las cuales el porcentaje de inhibición en la migración larval resultó superior al 25% en las concentraciones más altas.

Discusión

En este trabajo de experimentación se logró hacer un screening de varios extractos vegetales con el fin de identificar a los que tienen efecto antihelmíntico actuando sobre procesos concretos como la eclosión de huevos y la migración de larvas. Se pudo observar que tanto la inhibición de la eclosión de huevos como la inhibición de la migración larval fueron dosis dependientes, es decir que los mayores porcentajes de inhibición se produjeron en aquellos pocillos donde los huevos y las larvas estaban enfrentados con las mayores concentraciones de extractos vegetales, y este valor fue decreciendo a medida que disminuían las concentraciones hasta alcanzar un valor mínimo en el último pocillo. Esto indica que las técnicas utilizadas fueron adecuadas y confiables para ser utilizadas en el screening primario de sustancias con actividad nematocida.

Conclusión

Las técnicas *in vitro* empleadas fueron de utilidad para detectar 26 extractos vegetales de las familias *Rubiaceae*, *Solanaceae*, *Zygophyllaceae*, *Polygonaceae*, *Leguminoaseae*, *Bignoniaceae*, *Anacardiaceae*, *Lamiaceae* y *Euphorbiaceae* que podrían ser candidatos en estudios futuros. Sin embargo, una evaluación ulterior debería tener en cuenta el efecto antihelmíntico y la inocuidad de concentraciones mayores a las utilizadas en estas experiencias, la abundancia del vegetal en la naturaleza, su palatabilidad, la posibilidad de cultivo, sus ventajas y desventajas para la conservación del suelo, su crecimiento y expansión controlables, la posibilidad de incluirlo en formulaciones de administración sencilla en las que su actividad no decaiga o lo haga lentamente, etc.

Bibliografía

- Coles G.C., Jackson F., Pomroy W.E., Prichard R.K., Samson-Himmelstjerna G., Silvestre A., Taylor M.A., Vercruysse J., 2006. The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology* 136: 167-185.
- Coles G.C., 2005. Anthelmintic resistance- looking to the future: a UK perspective. *Research in Veterinary Science* 78: 99-108.
- Demeler J., Küttler U., El-Abdellati A., Stafford K., Rydzik A., Varady M., Kenyon F., Coles G., Höglund J., Jackson F., Vercruysse J., Von Samson-Himmelstjerna G., 2010. Standardization of the larval migration inhibition test for the detection of resistance to ivermectin in gastro intestinal nematodes of ruminants. *Veterinary Parasitology* 174: 58-64.

DISTRIBUCIÓN DE LA MELOFAGOSIS OVINA EN ARGENTINA Y SU RELACIÓN CON LAS TEMPERATURAS AMBIENTALES

Larroza, M.; Raffo F.; Olaechea, F.
Grupo Salud Animal INTA Bariloche

Introducción

La melofagosis, causada por el díptero *Melophagus ovinus* ("falsa garrapata") (Foto 1) es una de las principales ectoparasitosis que afectan a las majadas de ovinos. Su evolución y diseminación está relacionada con las condiciones climáticas, principalmente con la temperatura. El área principal de difusión de la melofagosis en Argentina es la Región Patagónica, donde existen condiciones climáticas favorables para el desarrollo de *M. ovinus*. En esta Región, los hallazgos del parásito son constantes, principalmente en las zonas húmedas de la precordillera y sur de Santa Cruz y Tierra del Fuego, observándose una dispersión que también afecta las majadas de la meseta árida y costa atlántica (Olaechea *et al.*, 2006). Esta dispersión ha sido atribuida al abandono de los baños antisárnicos por parte de los productores, ante la opción de los productos sistémicos inyectables, ya que la mayoría de estos, aplicados como sarnifugos, no erradican los melófagos. Adicionalmente, la escasa sintomatología clínica dificulta el diagnóstico temprano en los sistemas extensivos de cría ovina, lo cual determina que las infestaciones leves y las fallas de los tratamientos, generalmente se detecten a la esquila. Si bien se tiene conocimiento de ambientes donde se encuentra el parásito, no existen hasta el momento relevamientos que permitan caracterizar con certeza su distribución. Considerando esto, el objetivo del presente trabajo fue obtener información actualizada sobre la dispersión de *M. ovinus* en la Argentina, relacionando los hallazgos con las temperaturas ambientales de las áreas afectadas.

Foto 1. *Melophagus ovinus*.



Materiales y Métodos

Se realizaron encuestas confeccionadas con un diseño descriptivo y transversal, tomando como referencia los cuestionarios utilizados en los trabajos de Bisdorff y Wall (2006). Las mismas fueron hechas en forma personalizada a los dueños, administradores o encargados de establecimientos ganaderos durante los años 2010 y 2011, en las regiones Noroeste (NOA), Noreste (NEA), Cuyo, Pampeana y Patagónica. El número de encuestas realizadas en cada una de las regiones relevadas se relacionó con el porcentaje de ovinos presentes en las mismas. Los establecimientos encuestados fueron ubicados geográficamente y se obtuvieron registros de temperatura superficial mediante imágenes del satélite MODIS (producto MOD11A2), calculando las temperaturas promedio mensuales (TPM) para el periodo estudiado. Con estos valores se calcularon las TPM para las provincias relevadas y se compararon estadísticamente a nivel grupal las provincias con y sin registros del parásito, mediante la prueba T de Student.

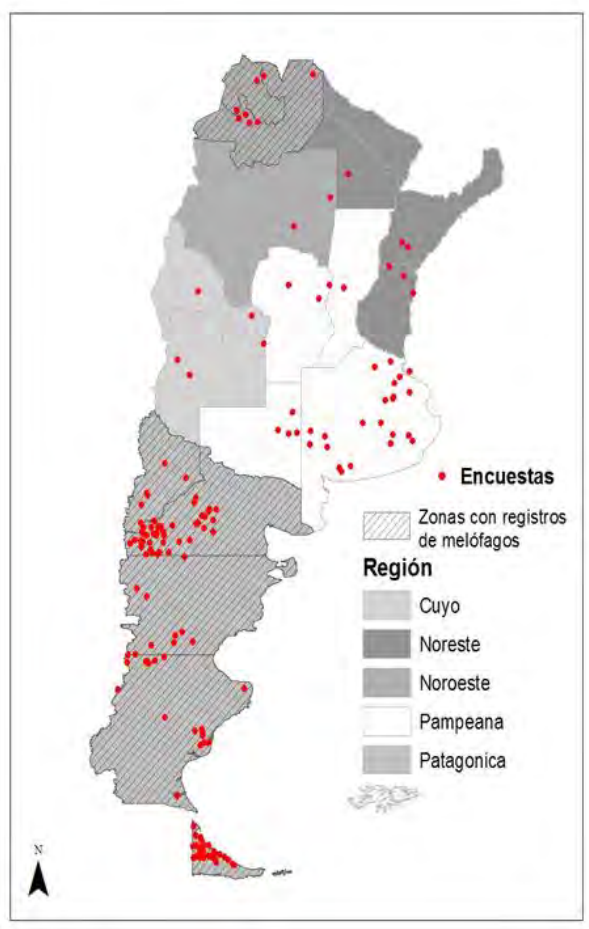
Resultados

Se encuestaron un total de 177 establecimientos ganaderos ovinos de 18 provincias, que sumaron en total 1.491.867 hectáreas y una existencia de 590.691 ovinos (Tabla 1 y Mapa 1). Como puede observarse, el 70% de la encuestas (n: 123) corresponde a la Región Patagónica, que concentra aproximadamente el 70% de la población ovina del país, mientras que el restante 30% de las encuestas (n: 54), se distribuyó en las Regiones Pampeana, Noreste, Noroeste y Cuyo (14, 11, 5 y 1 % de la población ovina nacional respectivamente).

Tabla 1. Número y porcentaje de encuestas realizadas en las Regiones Noroeste, Noreste, Cuyo, Pampeana y Patagónica (n: 177).

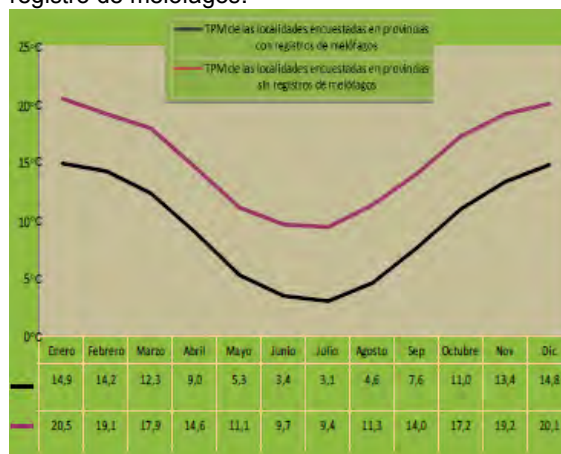
Región	n° ovinos*	% ovinos	n° encuestas	% encuestas
Noroeste	663.736	5	14	8
Noreste	1.613.921	11	6	3
Cuyo	195.136	1	5	3
Pampeana	2.060.668	14	29	16
Patagónica	10.198.685	69	123	70
Total	14.732.146	100	177	100

Mapa 1. Localización de los establecimientos encuestados en las Regiones Noroeste, Noreste, Cuyo, Pampeana y Patagónica, y provincias (n: 177).



La presencia de *Melophagus ovinus* fue identificada en 96 establecimientos sobre los 177 encuestados en el país, lo cual representa más del 50% de los relevamientos. Los hallazgos corresponden a 2 de las 5 regiones: Noroeste y Patagonia. En la región del Noroeste, se observó la presencia de melófagos en establecimientos de las provincias de Salta y Jujuy. En el caso de Salta, 5 de las 6 encuestas resultaron positivas, mientras que en Jujuy, en 2 de los 3 casos se observó la presencia del parásito. Con respecto a la región Patagónica, todas las provincias relevadas (Neuquén, Río Negro, Chubut, Santa Cruz y Tierra del Fuego) tuvieron registros de melófagos, con un 80% de positividad en la región. En cuanto a los registros de temperatura ambiental, se encontraron diferencias ($p < 0,05$) entre las temperaturas promedio mensuales del grupo de provincias con hallazgos de melófagos con respecto al grupo de provincias sin hallazgos del parásito. A lo largo del año, se observó que las temperaturas promedio mensuales conservaron valores entre 5 y 7°C más bajos en las provincias donde se registró la presencia de *M. ovinus* (Gráfico 1).

Gráfico 1. Temperaturas Promedio Mensuales (TPM) de las localidades encuestadas con y sin registro de melófagos.



Discusión

En algunas provincias sin registros de *M. ovinus* según las encuestas realizadas, como Mendoza, las TPM serían cercanas a las TPM de las provincias con hallazgos. A partir de esta observación, se consideran necesario realizar relevamientos más exhaustivos que confirmen la inexistencia de melófagos en las zonas donde no se registraron observaciones, y evitar su ingreso en las zonas que no tendrían limitaciones climáticas para su instalación, mediante controles de traslados de ovinos desde áreas endémicas.

Conclusión

Los resultados obtenidos aportan evidencia sobre la dispersión de *M. ovinus*, confirmando su existencia en las regiones Noroeste y Patagónica. Los registros de melófagos coinciden con las áreas de menores TPM, lo que indicaría que la temperatura es el principal componente ambiental que limita la distribución geográfica del parásito en Argentina.

Bibliografía

- Bisdorff, B.; Milnes, A. y Wall, R. 2006. Prevalence and regional distribution of scab, lice and blowfly strike in Great Britain. *The Veterinary Record* 158(22): 749-752.
- Gaitán, J. *et al.* 2011. Estimación de la temperatura de la superficie terrestre mediante imágenes satelitales en el norte de la Patagonia. C.T. n°32. EEA INTA Bariloche.
- Legg, D. *et al.* 1991. Seasonal movement and spatial distribution of the sheep ked (Diptera: Hippoboscidae) on Wyoming lambs. *J Econ Entomol.* 84(5):1532-9.
- Olaechea, F. *et al.* Ingreso y evolución del parasitismo por *Melophagus ovinus* en una majada Corriedale en el noroeste de la Patagonia Argentina. *Parasitol. Latinoam.* 2006, Vol.61, n.1-2, pp. 86-89.

CARACTERIZACIÓN DE LA SITUACIÓN DE LA MELOFAGOSIS EN LA PROVINCIA DE TIERRA DEL FUEGO, ARGENTINA

Larroza, M.¹; Leiva, D.²; Escribano, C.³; Disalvo⁴; V.; Montero⁴; Pantoja, C.⁵; Olmedo, E.⁵; Ceccaldi, E.³; Olaechea, F.¹

¹Grupo de Salud Animal INTA Bariloche; ²Méd. Vet. actividad privada; ³Agencia de Extensión Rural INTA Río Grande; ⁴Laboratorio Sanidad Animal Provincial; ⁵Prolana

Introducción

La Isla Grande de Tierra del Fuego posee un 56% (1.189.100 ha) de su superficie total (2.126.300 ha) ocupada por establecimientos agropecuarios, siendo la cría de ovinos para la obtención de lana y carne su principal actividad ganadera. En este contexto, surge la necesidad de maximizar la productividad ovina, mediante la mejora de los distintos aspectos que la componen como la sanidad de las majadas. El conocimiento y el control de los parásitos externos revisten gran importancia si se considera el efecto directo que ejercen sobre la cantidad y calidad de lana obtenida para su comercialización. Las principales enfermedades producidas por parásitos externos en ovinos en la Región Patagónica, son la melofagosis, producida por el díptero *Melophagus ovinus* o "falsa garrapata", la sarna psoróptica, producida por el ácaro *Psoroptes ovis* y la pediculosis por piojo masticador, causada por el piojo *Bovicola ovis*. Las tres enfermedades son de denuncia y control obligatorio, según lo establece el SENASA. Dentro de estas enfermedades, la melofagosis es una ectoparasitosis muy difundida en áreas templadas y frías de la Patagonia como el sur de Santa Cruz y Tierra del Fuego. Se calcula que el 70% de las majadas de esta región se encuentran afectadas por esta parasitosis, lo cual genera importantes dificultades y pérdidas económicas a la hora de comercializar los animales y sus productos como la lana. El objetivo de la realización de las encuestas fue estimar la prevalencia y distribución de la melofagosis en la provincia de Tierra del Fuego, caracterizando en forma general los establecimientos agropecuarios relevados y las medidas de manejo y control aplicadas.

Materiales y Métodos

Se realizaron encuestas con diseño descriptivo y transversal, en forma personal a los dueños o administradores de 29 establecimientos ganaderos pertenecientes al departamento de Río Grande, desde enero hasta diciembre del año 2011. En la realización de las mismas intervinieron: el Laboratorio de Sanidad Animal de la Provincia, la Agencia de Extensión Rural del INTA en Río Grande, médicos veterinarios de actividad privada, Prolana y la Estación Agropecuaria Experimental INTA Bariloche.

Resultados

Se relevaron 29 establecimientos ganaderos pertenecientes al departamento de Río Grande, 59,3% de los cuales corresponden a la zona de Ecotono, 33,3 % a Estepa Magallánica y 7,4% a Cordillera. (Ver Figura 1). Como puede observarse en la Tabla 1, los establecimientos encuestados representan un 35,8% de un total de 81 establecimientos existentes en la provincia según el Censo Nacional Agropecuario (2008). Las majadas en los establecimientos relevados fueron desde 110 a 66000 ovinos. Teniendo en cuenta que la hectáreas destinadas a la producción ovina representan el 85% (618.057 ha) de la superficie total relevada, la carga animal promedio estimada es de 1,1 ovino/ha, con valores extremos de 0,1 a 10 ovinos/ha. La raza ovina predominante es Corriedale (96,5%), con una producción destinada a lana y carne.

Figura 1. Mapa de la provincia de Tierra del Fuego con la localización de los sitios encuestados.

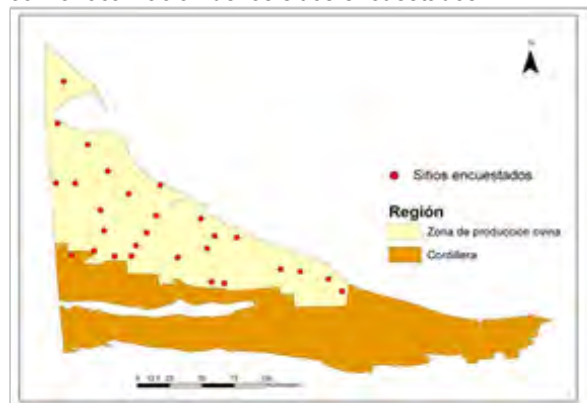
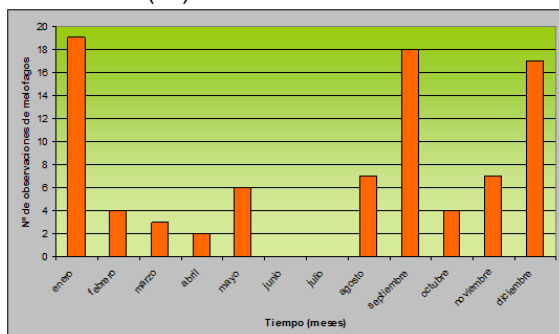


Tabla 1. Superficie (hectáreas), número de establecimientos y de animales en la provincia de Tierra del Fuego.

	Total T. del Fuego	Total encuestado	Porcentaje encuestado
Superficie (Has)	2126300	727058	34,2%
Establecimientos	81	29	35,8%
Nº Animales	505384	418401	82,8%

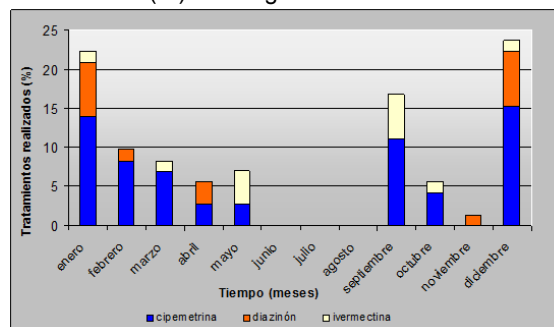
El 93,1% de los establecimientos observó la presencia de melófagos en el período consultado, la distribución de los casos observados a lo largo del año (durante el período 2009-2010) puede observarse en el Gráfico 2.

Gráfico 2. Número de observaciones de majadas con melófagos en el total de establecimientos encuestados (29).



En el 96% de los casos de observación de melófagos no hubo diagnóstico veterinario. El 76% de los productores declaró que alguno de sus vecinos tuvo melófagos en el período consultado. De este total, el 82% manifestó haber tomado alguna medida al respecto: trataron a los animales con antiparasitarios y los trasladaron a otros potreros (50%), sólo realizaron el tratamiento antiparasitario (44%) o solo trasladaron a los animales (6%). En cuanto al porcentaje de animales infestados, los resultados fueron muy variables: se obtuvieron 22 respuestas, en 12 casos (54,5%) los productores declararon tener hasta un 30% de ovinos con melófagos, 7 observaron más de 30 y hasta un 80% y 3 más de un 80%. La gravedad de la melofagosis fue definida como leve en el 76% de los casos, y como moderada en el 24%. Se registraron 3 principios activos empleados para el tratamiento o control de la melofagosis: piretroides (cipermetrina), avermectinas (ivermectina) y organofosforados (diazinón). El 96% de los productores utiliza piretroides, en el 50% de estos casos como droga única y en el 50% restante combinado con organofosforados o avermectinas, mientras que solo el 4% utiliza organofosforados como único tratamiento. Estos últimos se utilizan en baños de inmersión (50%) o de aspersión (50%). En cuanto al número de tratamientos realizados, el 22,2% de los establecimientos los aplica una vez al año, el 44,4% 2 veces y el 33,3% los aplica más de 3 a 4 veces en el año. En cuanto a las fechas de aplicación, se observó una gran dispersión a lo largo del año; la mayor cantidad de tratamientos se registraron luego de la esquila postparto, en los meses de diciembre (23,3%) y enero (21,9%) o preparto, en septiembre (16,4%). No se registraron tratamientos durante los meses de junio, julio y agosto. (Ver Gráfico 3).

Gráfico 3. Tratamientos realizados y principios activos utilizados en los establecimientos encuestados (%) a lo largo del año.



Discusión

Si bien la melofagosis fue la más frecuente de las ectoparasitosis observadas, se debe tener en cuenta que el diagnóstico piojos es más dificultoso, por lo que pudo haber casos no observados. Si bien las observaciones de melófagos en los establecimientos relevados fueron más frecuentes en los meses de septiembre, diciembre y enero, se asume que la mayor frecuencia en las observaciones de parásitos en estos tres meses se debe a que en estos momentos se reúnen los ovinos para las esquilas (pre y post parto), posibilitando la revisión de los animales. Por el contrario, no existen registros de observaciones de melófagos en los meses de junio y julio, cuando el contacto con los animales se dificulta principalmente debido a las condiciones climáticas de la región, a pesar de que la dinámica poblacional de la melofagosis determina incrementos de la carga parasitaria en el invierno, otoño y primavera (Evans, 1950). En cuanto a los tratamientos, se advirtió que en algunos casos se rotan las marcas comerciales utilizadas, pero no de los principios activos, con lo cual se aplican las mismas drogas antiparasitarias a lo largo del tiempo, lo que contribuye a la generación resistencia antiparasitaria.

Conclusión

De acuerdo al resultado de las encuestas, se confirma que la melofagosis es la más frecuente de las ectoparasitosis (continuando ausente la sarna y con escaso registro de la pediculosis), observada principalmente en septiembre, diciembre y enero, en relación a las esquilas pre y post parto.

Bibliografía

-Evans, G.O. 1950. Studies on the bionomics of sheep ked, *Melophagus ovinus* L., in west Wales. Bull. Ent. Res. 40: 459-478.

Melophagus ovinus: INFESTACIÓN EXPERIMENTAL DE OVINOS Y SUPERVIVENCIA DEL PARÁSITO EN EL MEDIO AMBIENTE

Olaechea, F.¹; Larroza, M.¹; Cabrera, R.¹; Raffo, F.¹
¹INTA EEA Bariloche

Introducción

Melophagus ovinus ("falsa garrapata") es un ectoparásito permanente y obligado de los ovinos, que se distribuye ampliamente en el mundo especialmente en áreas frías y templadas (Fotos 1 y 2). En Argentina, está presente en las regiones del Noroeste y Patagonia, siendo esta última su área principal de difusión, especialmente en las zonas húmedas de la precordillera y sur de Santa Cruz y Tierra del Fuego (Larroza, 2013; Olaechea, 2006). Si bien existe información que indica que la diseminación del melófago está relacionada con las distintas condiciones climáticas, principalmente con la temperatura, no han sido estudiados otros factores que podrían afectar su diseminación, como la capacidad para infestar nuevos huéspedes o la supervivencia del parásito en el medio ambiente. Con el objetivo de estudiar estos factores, se realizó el presente estudio.

Foto 1 y 2. *Melophagus ovinus*



Materiales y Métodos

Infestación experimental

Fueron utilizados 10 ovinos adultos cruce Corriedale, pertenecientes a un establecimiento ubicado en la cordillera rionegrina. Los animales, naturalmente parasitados con *M. ovinus*, se identificaron individualmente con caravanas y se dividieron en dos grupos: el Grupo 1, formado por 6 animales (peso promedio: 40,6 kg) y el Grupo 2, formado por 4 animales (peso promedio: 39,1 kg). En ambos grupos se realizó un conteo de melófagos, de acuerdo a Nelson *et al* (1957), con el animal sujeto, echado sobre el flanco izquierdo y revisando desde la cabeza hasta la cola todo el lado derecho, del animal. El número de melófagos obtenido se multiplicó por 2 y de esta manera se calculó el número total de melófagos por ovino. Luego este conteo inicial, se realizó una infestación artificial de melófagos en los animales del Grupo 2, a partir de melófagos colectados de ovinos parasitados pertenecientes a la misma majada. En el Grupo 1 no fue realizada ninguna infestación. Una

semana después se volvieron a realizar conteos de parásitos en ambos grupos de animales. En base a los resultados los conteos, se calculó la tasa de infestación, teniendo en cuenta la diferencia entre el número de melófagos registrados el día 7 y el día 0 y considerando como 100% el número de melófagos usados en la infestación artificial.

Supervivencia en el medio ambiente

Se colectaron 1489 melófagos adultos de ovinos parasitados naturalmente, y se trasladaron al laboratorio de la EEA INTA Bariloche. Los parásitos se distribuyeron al azar en 6 grupos de 120 a 469 ejemplares que fueron sometidos a condiciones ambientales controladas, con temperaturas de - 4°C, 4°C, 15 a 23°C y 23 a 27°C, en ambientes considerados secos (humedad relativa del aire 50%, con valores mínimos del 45% y máximos del 55%) y ambientes húmedos (humedad relativa del aire 90%). La viabilidad de los parásitos fue evaluada diariamente hasta no detectar ningún melófago vivo. Los datos fueron analizados con la metodología de análisis de supervivencia, aplicando el modelo de Kaplan – Meier, obteniendo curvas de supervivencia acumulada.

Resultados

Infestación experimental

En el grupo inoculado se observa una tasa de infestación general del 45,8%, con variaciones individuales del 23,8 al 73,7% (Tabla 1).

Tabla 1. Conteo inicial de melófagos, número de melófagos infestados y porcentaje de infestación en los grupos experimentales.

	Conteo inicial de melófagos	Nº de melófagos inoculados	Conteo final de melófagos	Porcentaje de infestación (rango)
Grupo 1 (n:6)	232	0	232	0%
Grupo 2 (n:4)	80	205	174	45,8% (23,8 - 73,7%)

Supervivencia en el medio ambiente

La mortalidad de los melófagos comenzó a observarse en todos los grupos estudiados a partir del día 3 con variaciones del 70% al 100%. El día 4 todos los grupos de melófagos sometidos a temperaturas más bajas (-4°C y

4°C) presentaron una mortalidad del 100% (ver Gráfico 1-a), mientras que en los demás grupos, sometidos a temperaturas más altas (15 a 23°C y 23 a 27°C), la mortalidad de los melófagos aumentó desde el 90 al 100%, desde el día 4 al 9 (ver Gráfico 1-b).

Gráfico 1-a. Supervivencia calculada a -4°C y 4° en ambiente seco (humedad relativa del aire 50%) y a 4°C en ambiente húmedo (humedad relativa del aire 90%).

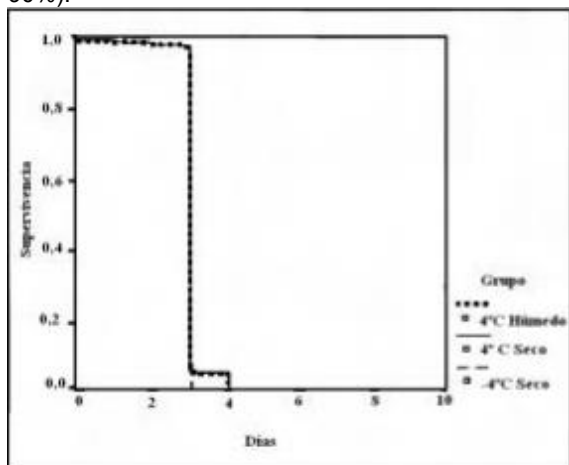
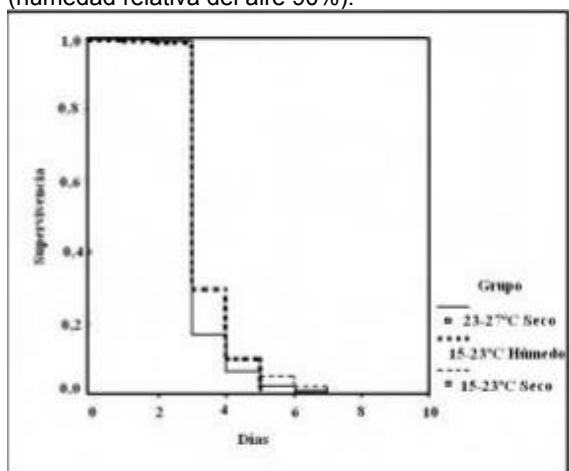


Gráfico 1-b. Supervivencia calculada a 15-23°C y 23°-27°C en ambiente seco (humedad relativa del aire 50%) y a 15-23°C en ambiente húmedo (humedad relativa del aire 90%).



Discusión

Se considera que colonización de *M. ovinus* en el grupo infestado fue moderada, ya que uno de cada dos melófagos inoculados pudo sobrevivir e instalarse en el nuevo huésped. Esto es diferente a lo que ocurre con otros ectoparásitos comunes de los ovinos, como *Psoraptres ovis* (ácaro de la sarna ovina), donde las infestaciones experimentales resultan más exitosas y se producen infestaciones intensas en cortos periodos de tiempo (Nuñez y Moltedo, 1985). Con respecto al tiempo supervivencia del parásito en el medio ambiente, se observó que los parásitos

colectados no sobreviven más de 3 o 4 días si son sometidos a temperaturas bajas, mientras que este periodo puede extenderse hasta aproximadamente 1 semana si las temperaturas son más elevadas. El promedio general de supervivencia registrado al día 3, fue del 15%, lo cual coincide con datos previos obtenidos en nuestro Laboratorio sobre 385 melófagos observados bajo temperaturas de 23 a 27°C, que mostraron porcentajes de supervivencia de 92%, 47% y 17% en el primer, segundo y tercer día, confirmando la gran mortandad de ejemplares que ocurre a pocos días de abandonar el huésped. La humedad como factor determinante en el tiempo de supervivencia de los melófagos no está reportada en la bibliografía existente. En el presente trabajo, al comparar los grupos sometidos a igual temperatura, no se encontraron diferencias atribuibles a la humedad. Similares hallazgos se reportaron en tos estudios de supervivencia realizados en *Bovicola ovis* (Crawford *et al.*, 2001), priorizando a la temperatura como factor limitante de supervivencia.

Conclusión

El presente estudio permitió obtener información sobre la capacidad de infestación de ovinos con *M. ovinus*, la cual podría resultar de utilidad al analizar la diseminación del parásito en una majada infestada, así como la posibilidad de realizar infestaciones experimentales con fines de estudio. La moderada capacidad de infestación y la relativamente baja supervivencia del parásito en el medio ambiente podrían considerarse como factores restrictivos para la diseminación del melófago.

Bibliografía

- Crawford. S.; James. P.; Maddocks. S.; 2001. Survival away from sheep and alternative methods of transmission of sheep lice (*Bovicola ovis*). *Veterinary Parasitology*. 94 (3); 205 -216.
- Larroza, M., 2013. Caracterización de la melofagosis en ovinos en la Región Patagónica: ciclo biológico, dinámica poblacional y distribución. PhD Tesis. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/34476>.
- Nuñez, J.; Moltedo, H.; 1985. Sarna Psoroptica en ovinos y bovinos. Ed. Hemisferio Sur. 3-10.
- Olaechea, F.; Corley, J.; Larroza, M.; Raffo, F.; Cabrera, R., 2006. Ingreso y evolución del parasitismo por *Melophagus ovinus* en una majada Corriedale en el noroeste de la Patagonia Argentina. *Parasit. Latinoamericana*. 61; 86- 89.

INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA AMBIENTAL EN EL PERÍODO PUPAL DE *Melophagus ovinus* EN PATAGONIA

Larroza, M.¹; Olaechea, F.
Grupo de Salud Animal - INTA EEA Bariloche

Introducción

Melophagus ovinus, conocido como “falsa garrapata”, es uno de los ectoparásitos más cosmopolitas y frecuentes de los ovinos en distintos países, principalmente en áreas templadas y frías. En la Región Patagónica, es una parasitosis emergente y su hallazgo es constante. Su ciclo biológico transcurre básicamente por los estadios de larva, pupa, ninfa y adulto. El período pupal (PP), definido como el tiempo que transcurre desde la postura de la pupa hasta su eclosión, suele presentar gran variación ante diferentes temperaturas y su conocimiento es sumamente importante en el éxito de los tratamientos ya que los melofaguicidas generalmente utilizados no tienen acción pupicida. El objetivo del presente estudio fue evaluar la relación existente entre la duración del período pupal y las temperaturas ambientales en Patagonia.

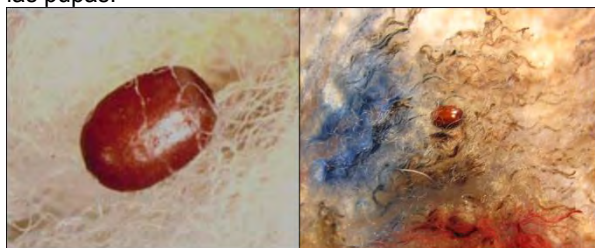
Materiales y Métodos

Las observaciones se realizaron sobre tres corderos Merino naturalmente infestados con *Melophagus ovinus*, identificados con caravanas y alojados en corrales semicubiertos, expuestos a las condiciones climáticas de la zona aunque resguardados de la lluvia y nieve. En cada uno de los ovinos se delimitaron con esmalte sintético cuatro zonas de 25 cm de diámetro, en la zona lateral del cuello y en la región caudal en ambos flancos (ver Foto 1). Estas zonas se revisaron diariamente verificando la puesta de pupas adheridas a las hebras de lana, e identificando las mismas mediante marcas en la lana con rotuladores indelebles (Edding MR) (Ver Foto 2). Durante 253 días (7 de abril al 16 de diciembre del 2009), se tomaron registros de las fechas de posturas y eclosiones de pupas en todas las zonas estudiadas. Las pupas se identificaron a simple vista, ya que miden de 3-4 mm de largo, son ovales y tienen dos series de 7 puntos umbilicados. En cuanto a las temperaturas ambientales (TA), se obtuvieron los registros colectados por el área de Climatología de la EEA INTA Bariloche. Los análisis estadísticos se realizaron con el software Medcalc versión 9.6.

Foto 1. Zona delimitada en el ovino, para registro de postura y eclosión de pupas.



Foto 2. Marcas en la lana indicando la ubicación de las pupas.



Resultados

Los PP promedio más cortos se registraron en los meses de abril y diciembre (14 y 16 días, con valores mínimos absolutos de 8 y 11 días respectivamente), meses en los cuales se registraron las TA promedio más altas del período (10,4 y 11,6 °C, con valores máximos absolutos de 16,8 y 24,5°C respectivamente). Los PP promedio más extensos se observaron en los meses de mayo, julio y agosto (23 a 25 días con valores máximos de 34 a 35 días), en los que las TA promedio fueron de 3,5 a 6,6 °C, con valores mínimos absolutos de -7,1 a -3,2°C (Ver Gráfico 1). Se calculó el coeficiente de correlación (r) entre PP y TA, obteniendo un valor de $r = -0.84$. Con respecto a la ubicación de las pupas estudiadas, se encontró que la distancia de las mismas con respecto a la piel fue en promedio 1,4 cm, manteniéndose relativamente constante (entre 1 a 1,6 cm), pese a que el largo de la lana fue variable, de 3 a 5,9 cm.

Gráfico 1. Promedios mensuales de temperatura (°C) y duración promedio del período pupal (días) durante los meses de abril a diciembre del año 2009.

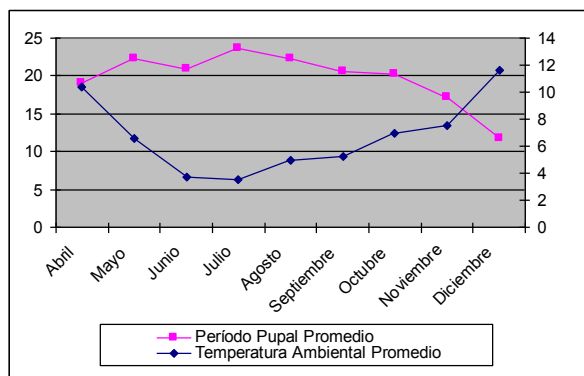


Tabla 1. Período Pupal promedio, mínimo y máximo de *Melophagus ovinus*, y registro de datos mensuales en corderos Merino, desde abril hasta diciembre del 2009, en la EEA INTA Bariloche.

Mes	Período Pupal (días)			N° de datos
	Media \pm D.E	Mínimo	Máximo	
Abril	18,6 \pm 6,5	8	35	22
Mayo	22,2 \pm 7,2	9	35	25
Junio	21,0 \pm 6,4	11	34	26
Julio	23,7 \pm 6,1	14	34	20
Agosto	22,3 \pm 5,1	13	31	16
Septiembre	20,5 \pm 4,8	12	30	13
Octubre	20,3 \pm 5,4	15	31	8
Noviembre	17,1 \pm 2,9	11	23	19
Diciembre	11,8 \pm 3,3	8	14	4

Discusión

Se ha discutido sobre la duración del período pupal, y es así que Graham y Taylor (1941) lo establecieron en 18 a 30 días y Evans (1950) en 20 a 26 días, existiendo referencias de valores máximos de 42 días de duración (Soulsby, 1987). Debido a que la variabilidad de este período se atribuye principalmente a diferencias en la temperatura ambiental, se plantea la necesidad de revisar los valores reales en nuestro medio, por ser esta una de las variables clave en la administración de tratamientos. En el presente trabajo, el PP fue más corto durante las épocas más cálidas (fin de primavera y verano, PP promedio de 12 días) y más extenso en las épocas más frías (otoño e invierno, PP promedio de 24 días), con valores extremos de 8 y 35 días. Estos valores difieren de los PP reportados en los principales trabajos de investigación existentes: de 18 a 30 días en Australia (Graham y Taylor, 1941) y de 20 a 26 días en Gales (Evans, 1950), observando un rango y una extensión más amplia. Los PP más extensos (35 días) se registraron en los meses más fríos (julio: temperatura media: 3,5°C) y PP más cortos (8 días) en los meses más cálidos (diciembre: 11,6°C): de acuerdo a la asociación lineal negativa encontrada entre ambas variables, se

esperaría que por cada grado de aumento de la temperatura media mensual, el PP disminuya 1,05 días (casi 25 horas). Teniendo en cuenta esta relación, y considerando los promedios históricos de temperatura en Bariloche, podrían estimarse los PP en los meses en los que generalmente se aplican los tratamientos melofagucidas en la zona. En septiembre-octubre (luego de la esquila preparto), con temperaturas medias mensuales de 5 y 8°C, los PP serían de 21,6 y 18,4 días respectivamente, y en diciembre (luego de la esquila posparto), con un promedio de temperatura de 13°C, el PP esperado es de 13,2 días. Estos valores de PP, y los valores extremos, principalmente los PP más extensos registrados en estos momentos (septiembre-octubre: 30-31 días y diciembre: 14 días) podrían tomarse como referencia al definir el periodo de acción residual mínimo que debiera tener el producto, ya que como se mencionó anteriormente los fármacos actualmente en uso no tienen poder pupicida (Small, 2005; Olaechea, 2007)

Conclusión

Los resultados obtenidos en el presente trabajo, evidencian las diferencias en la duración del período pupal bajo diferentes temperaturas ambientales. Si bien existen coincidencias con los de trabajos realizados en otros países, encontramos una mayor variabilidad en cuanto a la duración del PP. Considerando que este período resulta clave en la administración de tratamientos, los resultados deberían considerarse en el diseño de estrategias de control a nivel regional, con el fin de lograr mejores resultados en los tratamientos melofagucidas en las majadas de Patagonia.

Bibliografía

- Evans, G.O. 1950. Studies on the bionomics of sheep ked, *Melophagus ovinus* L., in west Wales. Bull. Ent. Res. 40: 459-478.
- Graham, N.P.H. y Taylor, K.L. 1941. Studies on the ectoparasites of sheep and their control. I. Observations on the bionomics of the sheep ked *Melophagus ovinus*. Austr. Council Sci. Ind. Pamphl. 108: 9-26.
- Olaechea, F.V. 2005. Ecto y endoparásitos, epidemiología y control. Seminario de Actualización en ovinos, INTA Bariloche, Río Negro.
- Small, R.W. 2005. A review of *Melophagus ovinus* (L.), the sheep ked. Veterinary Parasitology 130: 141-155.
- Soulsby, E.J. (1987). Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos. México, Ed. Interamericana 823 pp.

TEMPERATURAS DEL VELLÓN EN OVINOS MERINO Y SU RELACIÓN CON LAS TEMPERATURAS DEL MEDIO AMBIENTE EN PATAGONIA

Larroza, M.; Raffo F.; Olaechea, F.
Grupo Salud Animal, INTA Bariloche

Introducción

El ambiente patagónico donde se desarrolla la producción ovina es caracterizado climáticamente como templado frío, con temperaturas medias que oscilan entre 0 y 12°C (Borrelli, 2003). Bajo estas condiciones la estructura de la fibra de lana y su propiedad física de aislamiento térmico, genera un microclima dentro del vellón que en épocas frías tiene importantes diferencias con respecto a la ambiental. Este aislamiento térmico, mayor a pocos centímetros de la piel, también permite la instalación y el desarrollo de los ectoparásitos más comunes de los ovinos en épocas invernales (Olaechea, 2007). El objetivo del presente estudio fue estimar las diferencias de temperatura registradas en el ambiente, contrastándolas con las detectadas dentro del vellón a distintas distancias de la piel de un ovino de raza Merino

Materiales y Métodos

En corrales semicubiertos de la Estación Experimental INTA Bariloche (Río Negro), se registraron las temperaturas dentro del vellón de un ovino raza Merino y las temperaturas ambientales durante el mes de julio del año 2009.

En el animal, con lana de aproximadamente 6 cm de largo, las temperaturas dentro del vellón se registraron mediante dos sensores de temperatura (Thermochron iButton® DS1921G®) (Foto 1). Estos sensores, de acero inoxidable y de 16 mm de diámetro, se colocaron dentro de una cápsula de tela de tul que se adhirió a la lana con adhesivo instantáneo y se ubicaron sobre tacos de goma a uno y a dos cm de distancia de la piel en la zona lateral del cuello. (Foto 2).

La temperatura ambiente se midió con un Datalogger modelo TDL2048 colocado en los corrales, a una altura de aproximadamente un metro, tomando registros adicionales de temperatura y humedad mediante un termohigrómetro analógico. Todos los sensores, en el animal y en ambiente, se programaron para tomar registros de temperatura con una frecuencia de 60 minutos y se controló diariamente su funcionamiento y su fijación en el animal (Gráfico 1).

Con los 372 registros de cada sensor (12 por día, durante 31 días), se calcularon los promedios diarios de temperatura ambiental y de temperatura a 1 y a 2 cm de la piel y los índices de correlación entre estas variables.

Foto 1. Sensores de temperatura.



Foto 2. Sensor de temperatura colocado dentro del vellón en un ovino.



Gráfico 1. Registros y visualización de las temperaturas tomadas con los sensores.



Resultados

Las temperaturas ambientales (TA) diarias promedio registradas en los corrales en el mes de julio fueron desde -2,8 hasta 8,2°C, con un valor mínimo de -6,8 y máximo de 12,5°C; mientras que las temperaturas a 1 y a 2 cm del vellón (T1 y T2) diarias promedio sobre el ovino

fueron desde 24,4 a 31°C y desde 19,6 a 27,1°C respectivamente (Gráfico 2).

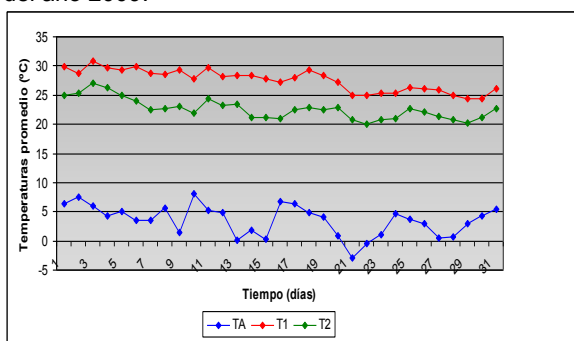
En cuanto a la diferencia máxima observada entre la TA y la registrada dentro del vellón, encontramos que fue de 28,1°C el día 13 de julio para TA – T1 (TA: 0,2°C, T1: 28,3°C) y de 23,8°C el día 21 de julio (TA: -2,8°C, T2: 21 °C). Los coeficientes de correlación (R) calculados a partir de los valores promedio diarios para el mes de julio ($p < 0,005$) para las distintas variables fueron:

R: TA – T1: 0,47

R: TA – T2: 0,49

R: T1 – T2: 0,82

Gráfico 2. Promedios diarios de temperatura ambiente (°C) y temperaturas dentro del vellón, a uno y dos cm de la piel (T1 y T2), del mes de julio del año 2009.



Discusión

El ensayo se realizó durante el invierno, un periodo considerado crítico para la producción ovina por sus bajas temperaturas. Asimismo, durante la época invernal es cuando mayormente se manifiestan las ectoparasitosis más comunes del ganado, como la sarna psoróptica (*Psoroptes ovis*), los piojos (*Bovicola ovis*) y los melófagos (*Melophagus ovinus*). En el presente trabajo, los sitios dentro del vellón en que se tomaron las temperaturas, corresponden a los sitios en que frecuentemente se observan los ectoparásitos mencionados, es decir, a pocos cm de la piel. En los análisis realizados se encontró una correlación directa y moderada entre las temperaturas ambientales y las registradas en el interior del vellón (R TA – T1: 0,47; R TA – T2: 0,49). Similares coeficientes fueron encontrados en trabajos previos, donde se relacionaron temperaturas medias ambientales y a nivel de la piel en ovinos merino (R: 0,42) (Sherwin *et al.*, 1990). En el microambiente dentro del vellón se mantiene una temperatura relativamente más estable con respecto al exterior. Esto se debe principalmente a la capacidad de aislamiento térmico de la lana, relacionada con su capacidad higroscópica. Esta relativa estabilidad se observa en las curvas de T1 y T2, que siguieron un patrón

similar a las TA, aunque con fluctuaciones menos pronunciadas. Las diferencias entre las temperaturas T1 y T2 tuvieron una relación lineal a la distancia a la piel y se encontraron fuertemente correlacionadas entre sí (R T1 – T2: 0,82). Esta condición es particularmente importante en la región Patagónica, donde existe una gran amplitud térmica y las condiciones climáticas son muy variables, pues contribuye a la homeostasis del animal y proporciona condiciones adecuadas para el desarrollo de los ectoparásitos obligados del ovino. Al igual que en trabajos previos, el ovino bajo estudio se encontraba en condiciones semi-controladas, sin algunas de las variables que ocurren en un sistema de producción extensivo (Gatenby *et al.* 1983). En este caso, el animal se alojó en un corral semi-cubierto, por lo cual no se consideraron las precipitaciones (en la mayor parte del territorio, no más de 260 mm anuales de los cuales el 70% ocurren durante el invierno), ni el viento, del cual los animales a campo se protegen buscando zonas de reparo. En investigaciones futuras podría considerarse el uso de los sensores (iButtons®), los cuales por sus características de resistencia, impermeabilidad, y autonomía, resultan aptos para realizar evaluaciones en animales a campo.

Conclusión

Bajo las condiciones descritas en el presente estudio se encontraron importantes diferencias de temperatura entre el interior del vellón y el medio ambiente, hasta 28°C. Estos resultados evidencian la gran capacidad de aislamiento del vellón y la existencia de un microambiente a pocos centímetros de la piel, que posibilita a los ovinos el mantenimiento de su temperatura relativamente estable a pesar de las fluctuaciones externas.

Bibliografía

- Borrelli, P. 2003. Ganadería Ovina Sustentable en la Patagonia Austral. Ediciones INTA.
- Olaechea, F. 2007. Phythiriasis y melofagosis. En: Suárez, V.; Olaechea, F.; Romero, J; Rossanigo, C. Enfermedades parasitarias de los ovinos y otros rumiantes menores en el cono sur de América. En: INTA EEA Anguil. Publicación Técnica N° 70. 205-216.
- Sherwin, C.; Johnson, K. 1990. Skin and Abdominal Temperatures Recorded by Data Loggers Attached to Merino Sheep Voluntarily Staying Out of Shade. Aust. J. Agric. Res. 41, 781-790.
- Gatenby, R.; Monteith J.; Clark, J. 1983 Temperature and humidity gradients in a sheep's fleece. I. Gradients in the steady state. Agricultural Meteorology Vol. 29.

SUPERVIVENCIA DE *Bovicola ovis* (Phthiraptera: Trichodectidae) EN CONDICIONES DE LABORATORIO

Larroza, M.¹; Germano M.²

¹INTA Bariloche; ² CIPEIN, UNIDEF-CONICET

Introducción

La pediculosis ovina producida por el piojo “masticador” *Bovicola ovis* es una de las principales parasitosis externas que afectan las majadas de la Patagonia Argentina. Constituye una de las tres ectoparasitosis de denuncia y control obligatorio en ovinos (SENASA), junto con la melofagosis, producida por *Melophagus ovinus*, y la Sarna psoróptica, producida por *Psoroptes ovis*. El piojo *Bovicola ovis* afecta con diferentes grados de intensidad las majadas ovinas, y ocasiona pérdidas de difícil cuantificación, tanto en la disminución de la productividad como en el aumento de costos de producción. La intensa irritación causada por estos insectos se asocia a un daño directo por continuo lamido, rascado y mordisqueo, lo que se traduce en disminución de la calidad y cantidad de lana obtenida. Debido a que el piojo masticador *Bovicola ovis*, se alimenta de detritos celulares, a diferencia de los piojos hematófagos o “chupadores”, que se alimentan de sangre, los métodos de control para esta especie no incluyen tratamientos inyectables. Los tratamientos disponibles para piojos masticadores en ovinos se basan en la aplicación de antiparasitarios externos, en general en base a piretroides, en formulaciones pour-on, spot-on o baños de inmersión. El conocimiento respecto de la biología de esta especie es limitado y con foco en las consecuencias que su infestación provoca en los animales de producción. Para avanzar en estos conocimientos, así como también para facilitar estudios de efectividad de productos antiparasitarios, es recomendable contar con una cepa de piojos capaz de mantenerse en condiciones de laboratorio. El objetivo de este trabajo fue establecer una cría de laboratorio transitoria de *Bovicola ovis* para avanzar en el conocimiento de la biología y toxicología de estos insectos.

Materiales y Métodos

Los ejemplares de *Bovicola ovis* se obtuvieron de tres ovinos con infestación natural, mantenidos en las instalaciones externas de la Estación Experimental INTA Bariloche (Ver Fotos 1, 2 y 3). Los mismos se recolectaron de forma manual del vellón de los animales, tomando adicionalmente muestras de lana de las zonas infestadas. Los individuos de *Bovicola ovis* fueron observados y contabilizados bajo la lupa, seleccionando los estadios adultos. Se evaluó el efecto de la

temperatura sobre la supervivencia fuera del huésped. Para ello se colocaron dos grupos de 50 adultos de *Bovicola ovis* en frascos con lana extraída del ovino de origen. Uno de estos grupos se mantuvo a temperatura ambiente ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) y otro se mantuvo a temperatura controlada de ($34 \pm 2^\circ\text{C}$). Una vez establecida la temperatura de mayor supervivencia, se evaluó un medio de cría que consistió de levadura y detritos cutáneos ovinos, más lana. La cantidad de alimento se estableció en base a protocolos previos y fue de 1g de detritos cutáneos + 0,06g de levadura. En ambos casos la humedad relativa fue del 70% y el ciclo de luz de 12:12 horas de Luz: Oscuridad (L:O). El porcentaje de individuos vivos se evaluó a diario realizando un conteo bajo lupa.

Foto 1. Recolección manual de ejemplares de *Bovicola ovis* del vellón de un ovino.



Foto 2. Selección de ejemplares de *Bovicola ovis* bajo la lupa.



Foto 3. Ejemplar adulto de *Bovicola ovis*.

Resultados

Entre las temperaturas evaluadas, la temperatura de $(34 \pm 2)^\circ\text{C}$ resultó más apta para la cría de *Bovicola ovis*, en efecto, el tiempo máximo de sobrevivencia sin alimento fue de 10 días a $(34 \pm 2)^\circ\text{C}$, y 5 días a $(22 \pm 2)^\circ\text{C}$ (Gráfico 1). El tiempo máximo de sobrevivencia se extendió a 22 días en los casos que se ofreció el medio de cría a $(34 \pm 2)^\circ\text{C}$ (Gráfico 2). Este resultado sugiere que el medio artificial ofrecido es apto para la cría transitoria de *Bovicola ovis*.

Gráfico 1. Porcentaje de supervivencia de *B. ovis* a dos temperaturas ambiente: 34°C y 22°C , 70% HR, y 12:12 L:O.

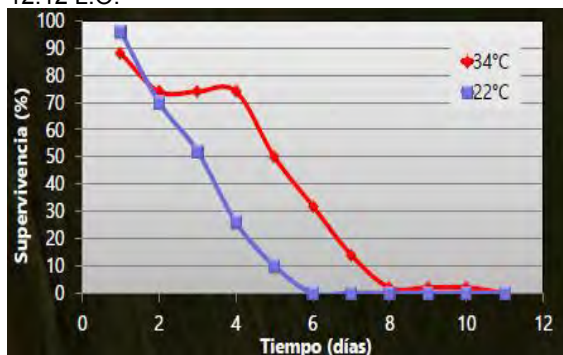
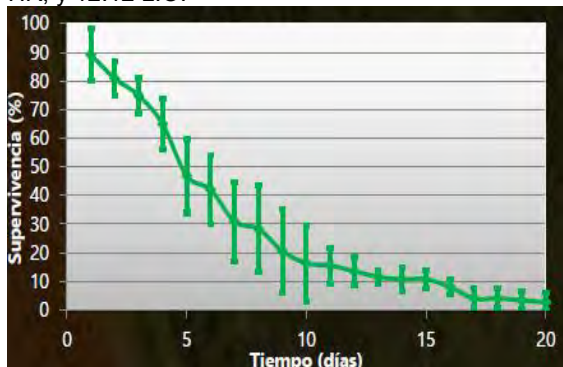


Gráfico 2. Porcentaje de supervivencia de *B. ovis* en medio de cría constituido por detritos cutáneos de ovino, levadura y lana. Cámara de cría a 34°C , 70% HR, y 12:12 L:O.



Discusión

Si bien se requieren más estudios para avanzar en el desarrollo de una cría estable de *Bovicola ovis*, los resultados presentados sugieren que un medio artificial de cría puede ser apto para mantener una colonia de esta especie en el laboratorio. El establecimiento de estas colonias de piojos *Bovicola ovis* permitirá la realización de ensayos de investigación *in vitro*, ya sea para la evaluación y monitoreo de la efectividad de productos antiparasitarios, la medición y determinación de variables biológicas, etc. De igual manera, el protocolo de establecimiento de cepas de laboratorio permitirá el mantenimiento y la disposición en forma continua de cepas de referencia, como las cepas susceptibles a tratamientos con productos antiparasitarios. Esto determina la posibilidad de realizar ensayos sin la necesidad de contar con ovinos a corral o a campo, al menos durante las primeras instancias de la investigación, facilitando la operatividad y el diseño de las pruebas preliminares.

Conclusión

En el presente trabajo se determinaron los parámetros óptimos de temperatura y humedad, con alimentación artificial para la cría en laboratorio del piojo masticador. El establecimiento de una cepa de *Bovicola ovis* en condiciones de laboratorio permitirá la obtención de información relevante para el diseño de estrategias adecuadas para el control de la pediculosis ovina en majadas infestadas.

Bibliografía

- James, P. J.; Saunders, P. E.; Cockrum, K. S., Munro, K. J. 1993. Resistance to synthetic pyrethroids in South Australian populations of sheep lice (*Bovicola ovis*). Australian Veterinary Journal 70: 105-108.
- Levot, Garry W. 1994. A survey of organophosphates susceptibility in populations of *Bovicola ovis* (Schrank) (Phthiraptera: Trichodectidae). Aust. J. Entomol 33(1): 31-34.
- Robertson, J. L.; R. M. Russell, H. K.; Preisler; N. E. Savin. 2007. Bioassays with arthropods, 2nd ed. CRC Press, USA.
- Olaechea F.V. 2007. Phthiriasis y melofagosis, In: Suarez V.H., Olaechea F.V., Rossanigo C.E. & Romero J.R. (Eds), Enfermedades Parasitarias de los Ovinos y Otros Rumiantes Menores en el Cono Sur de América. P. 205-216.

CASO DE TUNGIOSIS (*Tunga penetrans*) EN RUMIANTES MENORES DE SALTA, ARGENTINA

Aguirre, D.H.¹; Micheloud, J.F.¹; Cafrune, M.M.¹; Viñabal, A.E.¹

¹INTA - IIACS Leales/ EEA Salta

Introducción

La tungiosis es una parasitosis cutánea causada por hembras ovígeras de pulgas del género *Tunga*, que invaden la epidermis de numerosas especies de homeotermos y prevalecen en los ambientes tropicales y subtropicales del mundo. Se reconocen 13 especies de *Tunga* que, por su morfología y afinidad de hospedadores integran dos grupos: *caecata*, parásitos exclusivos de roedores, y *penetrans*, parásitos primarios de los edentados. Dos especies de este grupo, *Tunga penetrans* y *Tunga trimamillata* muestran la mayor dispersión geográfica y son capaces de parasitar a distintas especies de ganado, además del hombre. En Argentina, donde se conoce vulgarmente como "pique", la tungiosis es endémica en vastas áreas del norte del país, según refleja la casuística humana. Por el contrario, los registros sobre esta parasitosis en el ganado se limitan a unos pocos casos en bovinos, caprinos y porcinos de la región noroeste. Este trabajo describe un caso de tungiosis ocurrido en pequeños rumiantes de Salta.

Materiales y Métodos

El caso se estudió en agosto de 2013 en un pequeño rebaño mixto ubicado cerca de Gallinato (24°40'35"S, 65°20'26"W, 1.282 m.s.n.m.), Dpto. La Caldera, Salta. La majada estaba compuesta por un total de 49 animales: 39 ovinos Criolla x Hampshire Down y diez caprinos Criolla x Anglo Nubian. La mayoría de los animales eran adultos, exceptuando seis corderos y cuatro cabritos. El rebaño se manejaba con encierre nocturno. Se examinaron todos los animales para detectar lesiones de tungiosis. Adicionalmente se realizó la necropsia de la cabra más afectada, obteniéndose muestras cutáneas mamarias y podales para recuperar hembras ovígeras (neosomas) de las pulgas para taxonomía. Parte de las mismas se recolectaron en formol bufferado al 10% para histopatología, las que fueron procesadas por métodos usuales, coloreándose con Hematoxilina-Eosina.

Resultados

Únicamente dos (5%) ovejas adultas mostraron lesiones focales de tungiosis en las ubres, mientras que todos (100%) los caprinos adultos y crías exhibían severas lesiones mamarias (Foto 1) y podales (cabras) o sólo podales

(cabritos), afectando tanto el rodete coronario (Foto 2) como el espacio interdigital. Las dos cabras más viejas habían perdido uno de sus medios mamarios, como probable consecuencia de mastitis crónicas asociadas. Los cabritos presentaban cojeras marcadas que dificultaban su traslación, incidiendo negativamente sobre su estado corporal. El examen de los neosomas (Foto 3), así como el de una hembra adulta fijada al pie de uno de los autores (A.E.V.), permitió determinar que las pulgas correspondían a la especie *Tunga penetrans*. Los cortes histológicos de la piel de la ubre y del rodete coronario de la cabra revelaron una dermatitis profunda con presencia de formas parasitarias intralesionales, que se alojaban en pseudo-cavidades en el estrato córneo de la epidermis. Estas neo-cavidades eran rodeadas por una moderada infiltración inflamatoria de linfocitos y eosinófilos. Se observó además hiperqueratosis paraqueratósica y acantosis. Las formas parasitarias presentaban una cutícula queratinizada debajo de la cual se apreciaban grandes células hipodérmicas dispuestas en fila. En el interior de esta estructura se visualizaron múltiples fragmentos del tubo digestivo y el aparato reproductor de las pulgas.

Foto 1. Infestación por *T. penetrans* en la ubre de una cabra y detalle de las lesiones.



Foto 2. Infestación por *T. penetrans* en el rodete coronario de la extremidad de un cabrito.



Foto 3a. Hembra ovígera (neosoma) de *T. penetrans* (vista parcial).



Foto 3b. Hembra ovígera (neosoma) de *T. penetrans* (vista parcial).



Discusión

Se especula que el encierre nocturno a corral pudo favorecer la presentación de tungiosis en el rebaño. Los caprinos resultaron cuali- y cuantitativamente más parasitados en relación con los ovinos. Una encuesta realizada en el Dpto. Rivadavia (Banda Sur), Salta, había revelado la ocurrencia de esta parasitosis en el 77,4% de los rebaños caprinos (n = 37). Aun así, la diferencia de prevalencia y severidad de la tungiosis entre ambas especies de ganado fue llamativa, abriendo hipótesis sobre los factores causales de tal disimilitud. El cerdo evidenció ser hospedador preferencial de *T. penetrans* en situaciones en las que los rumiantes menores no resultaron infestados. Por su parte, ovinos y caprinos fueron afectados por tungiosis en Ecuador y Perú, aunque a causa de *T. trimamillata*, especie de hallazgo menos frecuente en cerdos que en rumiantes y siempre en co-infestación con *T. penetrans*. El caso actual, particularmente nocivo para los caprinos, así como otro previo que cursó con una papilomatosis asociada en bovinos del norte salteño, denotan la relevancia clínica y económica de la tungiosis para distintas especies de ganado en la región noroeste del país, sumado a la importancia que reviste para la salud pública en su carácter de zoonosis parasitaria.

Bibliografía

- Kühne, G.I. 1986. Parásitos diagnosticados en el decenio 1976-1985 en la Unidad Regional de Investigación en Sanidad Animal del Noroeste Argentino. I. Helmintos y protozoarios. Rev. Inv. Agropec. (INTA) 21 (1): 73-79.
- Menghi, C.I., Comunale, E. y Gatta, C.L. 2009. Tungiosis adquirida en la provincia del Chaco, Argentina. Rev. Arg. Microbiol. 41: 148-150.
- Marín, R.E. 2010. Dermatitis digital papilomatosa bovina asociada a infestación con *Tunga penetrans* en bovinos de cría del Noroeste argentino. Res. 7^a RAPAVE, Buenos Aires, Argentina, p. 57.
- Gaido, A.B., Suárez, V.H., Salatin, A.O., Neumann, R.D., Rossetto, C.B., Pinto, G., Aguirre, D.H., Porta, N. y Viñabal, A.E. 2012. Prácticas de manejo y presencia de enfermedades en majadas caprinas del Chaco salteño. Res.19^a Reun. AAVLD, Buenos Aires, Argentina, p. 270-272.
- Linardi, P.M., De Avelar, D.M. and Facury Filho, E.J. 2013. Establishment of *Tunga trimamillata* (Siphonaptera: Tungidae) in Brazil. Parasitol. Res. 112: 3239-3242.

EVALUACIÓN COPROLÓGICA DE HELMINTIASIS GASTROINTESTINALES EN PEQUEÑOS RUMIANTES DE LA QUEBRADA DEL TORO, SALTA

¹Grossberger, G.; ²Viñabal, A.E.; ²Cafrune, M.M.; ²Suárez, V.H.; ²Aguirre, D.H.
¹Secretaría de Agricultura Familiar, Salta; ²INTA EEA Salta

Introducción

Las helmintiasis gastrointestinales (nematodiasis, fasciolosis) constituyen un problema sanitario relevante de los pequeños rumiantes mantenidos en pastoreo directo, aunque su magnitud varía marcadamente en función –entre otras– de las características ambientales. Ello es ostensible en el noroeste argentino, dada su gran diversidad de ambientes, que determinan fuertes desafíos para lograr información epidemiológica básica sobre las helmintiasis del ganado. En este trabajo se evaluó mediante coprología la nematodiasis y la fasciolosis en pequeños rumiantes de la Quebrada del Toro, Departamento Rosario de Lerma, Salta.

Materiales y Métodos

El área tiene una altitud que oscila entre 1800 y 2900 m.s.n.m., con clima variable de semiárido a árido en relación con la altura. Las lluvias medias son de ≤ 390 mm anuales, concentradas entre diciembre y marzo. La temperatura media anual varía fuertemente con la altitud entre 10 °C (2.900 m) y 15 °C (1.800 m). Entre julio de 2010 y noviembre de 2012 se colectaron 154 muestras de heces de caprinos (n = 121) y ovinos (n = 33) adultos de 12 rebaños pertenecientes a pequeños productores (ocho de caprinos, cuatro mixtos con ovinos) del pueblo originario Tastil. Los rebaños se mantenían sobre recursos forrajeros naturales con abundante presencia de arbustivas y encierre nocturno en corrales. El agua para consumo animal (tanto como humano) provenía de cursos naturales, afluentes del río Rosario que corre por la Quebrada. En algunos rebaños se aplicaban tratamientos antiparasitarios anuales o bianuales con drogas de amplio espectro nematodocida (lactonas macrocíclicas, bencimidazoles) o de acción fasciolocida (closantel). Las muestras se tomaron de majadas sin previa desparasitación y se procesaron en forma sucesiva por las técnicas de McMaster modificada y de sedimentación-flotación para el conteo de los huevos de nematodos tricostrongílicos (hpg) y de *Fasciola hepatica* (hFpg) por gramo de heces, respectivamente. En dos rebaños caprinos se determinaron los géneros de nematodos por identificación de larvas presentes en los coprocultivos.

Resultados

Un 24,7% de los animales mostraron infestación por nematodos tricostrongílicos con una baja intensidad media ($93,2 \pm 128,7$ hpg). Por el contrario, el 62,3% de los pequeños rumiantes evidenciaron infestación por *F. hepatica*, con una intensidad media moderada ($33,6 \pm 63,6$ hFpg). La fasciolosis estuvo presente en 10 (83,3%) de los doce rebaños evaluados, en dos de los cuales la prevalencia individual alcanzó al 100% de los caprinos, con una intensidad media más elevada ($66,0 \pm 88,5$ hFpg). No hubo diferencias en la prevalencia individual de la fasciolosis entre ovinos y caprinos (63,6% vs. 61,9%, $P > 0,05$). Un coprocultivo mostró solo larvas de *Trichostrongylus*, mientras el restante exhibió cuatro géneros de larvas: *Trichostrongylus* (39%), *Chabertia* (39%), *Teladorsagia* (18%) y *Haemonchus* (4%). Un 18,8% de los animales presentó huevos de *Nematodirus*, un 3,3 % huevos de *Skjrabinema* y un 2,6% huevos de *Trichuris*.

Discusión

Los resultados indican una escasa relevancia de la nematodiasis pero una alta prevalencia de la fasciolosis en los pequeños rumiantes del área evaluada. Los parámetros de la infestación por *F. hepatica* sugieren un impacto negativo en la productividad de algunos rebaños, así como eventual riesgo sanitario para la población humana originaria, dada la condición endémica de esta zoonosis en la Quebrada del Toro.

Bibliografía

- Aguirre, D.H., Cafrune, M.M., Salatin, A.O. y Abeyá, A.A. 2005. Fasciolosis clínica en cabras de Metán, Salta, Argentina. Rev. FAVE - Ciencias Veterinarias 4: 17-21.
- Aguirre, D.H., Nieva, J.D., Salatin, A.O., Viñabal, A.E. y Cafrune, M.M. 2008. Evaluación coprológica de la nematodiasis gastrointestinal caprina en Tumbaya y Tilcara, provincia de Jujuy. Rev. Arg. Prod. Anim. 28 (Supl. 1): 326-327.

EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD IN VITRO DE CIPERMETRINA Y DIAZINÓN SOBRE EL PIOJO OVINO *Bovicola ovis* (Phthiraptera: Trichodectidae)

Larroza, M.¹; Lauroua C.¹; Germano M.²

¹Grupo de Salud Animal INTA Bariloche; ²CIPEIN, UNIDEF-CONICET

Introducción

La pediculosis causada por el piojo masticador *Bovicola ovis* es una enfermedad emergente de denuncia y control obligatorio oficial, asociada a pérdidas económicas en la producción ovina. Las medidas para su control se focalizan en el uso de productos químicos formulados como pouron, spot on, o baños de inmersión o aspersión, cuyos ingredientes activos suelen ser la cipermetrina (piretroide) o el diazinón (organofosforado). La frecuente aplicación de estos productos, en muchos casos sin supervisión veterinaria, puede asociarse a una disminución en su efectividad y un posible desarrollo de resistencia. En efecto, existe evidencia de poblaciones de *B. ovis* resistentes a insecticidas, aunque no se dispone de información acerca de la efectividad de estos compuestos en nuestro país. Para ambos compuestos, se estableció la efectividad en *B. ovis* de ovinos susceptibles, y se estableció una concentración discriminante de referencia para evaluar susceptibilidad y resistencia. .

Materiales y Métodos

Se impregnaron papeles de filtro de 5 cm de diámetro con 0,5 ml de soluciones de insecticida en acetona. Se expusieron grupos de 10 piojos adultos a cuatro o más concentraciones que causarían entre 10 y 90 % de mortalidad, y a un control de acetona pura. Los piojos fueron recolectados manualmente de un ovino parasitado procedente de una majada no tratada durante los últimos 3 años. Se los mantuvo a 34°C y 68% humedad relativa hasta la evaluación de la mortalidad (16 hs). Los resultados fueron analizados mediante análisis Probit.

Resultados

Se obtuvieron las concentraciones letales 50% (CL50) de referencia susceptible para *B. ovis*: CL50 cipermetrina $\approx 0,5$ mg/ml y CL50 diazinón ≈ 4 μ g/ml (Tabla 1). En cuanto a las concentraciones discriminantes (CL99), se obtuvieron valores de 12 mg/ml y 12,3 μ g/ml para cipermetrina y diazinón respectivamente.

Tabla 1. Toxicidad de cipermetrina y diazinón sobre *Bovicola ovis*.

	Nº de individuos	CL50 (IC 95%) ^a	Pendiente	CL99 (IC 95%) ^b
Cipermetrina (mg/ml)	257	0,47 (0,24-0,80)	1,65 \pm 0,25	11,98 (4,6-89,08)
Diazinon (μ g/ml)	314	3,89 (3,18-4,56)	4,63 \pm 0,65	12,35 (8,97 -24,57)

a: Concentración letal 50% (CL50) e intervalos de confianza de 95%

b: Concentración discriminante (CL99) e intervalos de confianza de 95%

Discusión

Teniendo en cuenta que los principios activos utilizados en el tratamiento de *B. ovis* son escasos, lo cual limita la posibilidad de rotación de los mismos en sucesivas aplicaciones, es recomendable el monitoreo periódico de su efectividad. Los valores obtenidos en este trabajo podrán ser utilizados para tal fin, aunque serán necesarios futuros ensayos realizados con cepas de diferentes orígenes, para ajustar estos valores.

Conclusión

Este trabajo presenta el primer análisis de efectividad antiparasitaria en *Bovicola ovis* en Argentina. Dado que los bioensayos se realizaron en *Bovicola ovis* nunca expuestos a antiparasitarios, los resultados podrán ser utilizados como referencia de susceptibilidad para el monitoreo de resistencia a insecticidas en *Bovicola ovis* de Patagonia Argentina. Este monitoreo permitirá optimizar el manejo de la pediculosis ovina en áreas de alta infestación y falla de control.

Bibliografía

- James, P. J.; Saunders, P. E.; Cockrum, K. S., Munro, K. J. 1993. Resistance to synthetic pyrethroids in South Australian populations of sheep lice (*Bovicola ovis*). Australian Veterinary Journal 70: 105-108.
- Levot, Garry W. 1994. A survey of organophosphates susceptibility in populations of *Bovicola ovis* (Schrank) (Phthiraptera: Trichodectidae). Aust. J. Entomol 33(1): 31-34.

PREVALENCIA COPROLÓGICA DE HELMINTOS GASTROINTESTINALES EN CAMÉLIDOS SUDAMERICANOS DEL NOROESTE ARGENTINO

Cafrune, M.M.¹; Romero, S.R.²; Rigalt, F.A.³; Marín, R.E.⁴; Aguirre, D.H.¹

¹INTA EEA Salta; ²INTA EEA Abra Pampa; ³INTA EEA Catamarca; ⁴Min.de Prod. y M. Ambiente, Jujuy

Introducción

La gastroenteritis parasitaria de los camélidos sudamericanos (CS) es causada por una variedad de helmintos. Algunos de ellos (todos nematodos) son huéspedes-específicos (i.e. *Graphinema aucheniae*, *Mazamastrongylus* (= *Spiculoptergia*) *peruvianus*, *Camelostrongylus mentulatus*, *Nematodirus lamae*, *Lamanema chavezii*, *Trichuris tenuis*, una especie desconocida de Capillariidae) mientras otros son compartidos con rumiantes domésticos (varias especies de nematodos tricostrongílicos, *Fasciola hepatica*, tenias). Pese a que los últimos son relevantes en CS mantenidos en áreas extra-andinas, los nematodos específicos parecen ser más prevalentes y abundantes en los CS criados en sus habitats originales de Sudamérica.

Solo tres de seis especies de nematodos asumidas como propias de los CS fueron registradas a la fecha en Argentina: *L. chavezii*, *T. tenuis* y *C. mentulatus*. A pesar del informe de varias especies de *Nematodirus* en guanacos locales, no hay registro de la especie típica de los CS, *N. lamae*, en Argentina, como también ocurre con otros dos nematodos CS-específicos: *G. aucheniae* y *M. (S.) peruvianus*. Respecto a los Platelminetos, *F. hepatica* fue diagnosticada con frecuencia en CS de Argentina, a veces causando signos clínicos. La presencia de tenias (i.e. *Moniezia expansa*) fue también reportada en guanacos de Argentina, aunque no se reconocen especies de Cestoda específicas de los CS.

Este trabajo informa la prevalencia coprológica de diferentes helmintos en llamas (domésticas) y vicuñas (silvestres) de la región Noroeste (NOA), región que mantiene casi el 95% de las existencias de llamas y cerca del 75% de la población de vicuñas de la Argentina.

Materiales y Métodos

Se colectaron muestras de heces *per rectum* de 708 llamas (89 rebaños) y 222 vicuñas (siete poblaciones) que habitaban en 16 Departamentos de tres Provincias del NOA (Jujuy, Salta and Catamarca). Las colectas se realizaron entre mayo 2006 y noviembre 2009, excepto por las vicuñas de Salta muestreadas en diciembre 2004. La mayor parte de las vicuñas se mantenían en cautividad, excepto las de Catamarca.

Todas las llamas y la mayoría de las vicuñas muestreadas fueron adultas (> 1 año de edad). Casi todos los rebaños de llamas se encontraban sin tratamiento antihelmintico. Las vicuñas en cautividad eran tratadas usualmente dos veces al año con lactonas macrocíclicas, por lo cual fueron muestreadas previo al segundo tratamiento.

Las muestras de material fecal se procesaron por dos técnicas en paralelo: A) MacMaster modificada y B) técnica de sedimentación-flotación descrita por Cafrune *et al.* (2009). Los huevos se determinaron como *L. chavezii*, *Trichuris* sp., *Capillaria* sp., *Nematodirus* sp. y *Fasciola hepatica* por la técnica B, o como *Strongyloides* sp. y otras especies de tricostrongílicos (*Haemonchus*., *Cooperia*, *Trichostrongylus* y *Teladorsagia* cuyos huevos no pueden diferenciarse con precisión al examen microscópico) por la técnica A. Los huevos de tenias se determinaron por ambas técnicas (A + B).

La prevalencia de cada helminto (o grupo de helmintos) en llamas y vicuñas se calculó por el número de rebaños/ poblaciones y de CS infestados respecto del número total estudiado.

Resultados

La prevalencia a nivel de rebaño e individual de cada helminto en las dos especies de CS se presenta en la Tabla 1. Entre los nematodos con huevos diferenciables, *Trichuris* sp. resultó el más prevalente en ambas especies de CS, seguido por *L. chavezii* (solo en llamas) y por *Capillaria* sp., *Nematodirus* sp. y *Strongyloides* sp., en ese orden.

Discusión

La alta prevalencia de *Trichuris* sp. coincidió con informes previos en llamas, vicuñas y guanacos de Argentina. Probablemente la mayor parte de los huevos de *Trichuris* hayan pertenecido a *T. tenuis*, la especie CS-específica compartida con los camélidos del Viejo Mundo. Se ignora el potencial patógeno de este nematode, pese a cierta evidencia de su acción deletérea, al menos asociado con otros nematodos como *L. chavezii*.

Tabla 1. Prevalencia (%) a nivel de rebaños/ poblaciones e individual de la infestación por diferentes helmintos diagnosticados por dos técnicas (A, B) en heces de llamas y vicuñas del NOA.

Tipo de helminto (técnica: A, B)	Especie de CS	Rebaños Nº infectados/ nº examinados	CS Nº infectados/ nº examinados
<i>Lamanema chavezii</i> (A)	Llama	30,3 (27/89)	18,5 (131/708)
	Vicuña	0 (0/7)	0 (0/222)
<i>Trichuris</i> sp. (A)	Llama	82,0 (73/89)	38,8 (275/708)
	Vicuña	71,4 (5/7)	47,3 (105/222)
<i>Capillaria</i> sp. (A)	Llama	29,2 (26/89)	7,3 (52/708)
	Vicuña	28,6 (2/7)	7,2 (16/222)
<i>Nematodirus</i> sp. (A)	Llama	6,7 (6/89)	5,1 (36/708)
	Vicuña	14,2 (1/7)	2,3 (5/222)
<i>Strongyloides</i> sp. (B)	Llama	3,4 (3/89)	2,7 (19/708)
	Vicuña	14,2 (1/7)	0,5 (1/222)
Trichostrongylidae (B)	Llama	35,6 (26/73)	9,3 (108/558)
	Vicuña	57,1 (4/7)	3,2 (7/222)
<i>Fasciola hepatica</i> (A)	Llama	10,1 (9/89)	4,2 (30/708)
	Vicuña	14,2 (1/7)	4,1 (9/222)
Cestoda (A + B)	Llama	44,9 (40/89)	9,8 (70/708)
	Vicuña	28,6 (2/7)	2,7 (6/222)

Este último fue hallado únicamente en llamas, con una prevalencia moderada. Algunos aspectos de la infección por *L. chavezii* en llamas del NOA fueron publicados recientemente. Su ausencia en vicuñas no era esperada desde que *L. chavezii* fue descrito a partir de este huésped y que el guanaco, la otra especie silvestre de CS se encontró infestada por este nematode en Argentina. La aparente distribución en 'clusters' de *L. chavezii* podría explicar su ausencia en las siete poblaciones de vicuñas aquí estudiadas. Más aún, su hallazgo en roedores de Argentina condujo a algunos autores a proponer que *L. chavezii* constituye un parásito aberrante de los CS. Los huevos de Capillariidae, mostraron parámetros similares de infección en ambas especies de CS, con prevalencia moderada. La especie de Capillariidae que infecta a los CS permanece desconocida hasta ahora, aunque el hallazgo de huevos en momias de CS peruanos permite postular que este nematode sea CS-específico. La prevalencia de *Nematodirus* sp. fue baja en llamas y vicuñas. A la fecha no hay registros de la especie-específica de los CS, *N. lamae*, en Argentina. La prevalencia global de Trichostrongylidae fue moderada. Algunos de estos huevos podrían pertenecer a especies CS-específicas. Entre estas, solo *C. mentulatus* fue diagnosticado parasitando a llamas de la Argentina en dos ocasiones. *F. hepatica* mostró baja prevalencia en ambas especies de CS, similares a nivel de rebaño/ poblaciones e individual.

La prevalencia de cestodes fue alta, al menos a nivel de rebaño/ poblaciones; sus huevos podrían pertenecer a alguna especie de *Moniezia*, como p.ej., *M. expansa*, informada previamente como parásito de los guanacos de Argentina.

Tal como era de esperar en CS que ocupan sus ambientes originales, los nematodes CS-específicos fueron en conjunto más prevalentes que otras especies de helmintos del ganado.

Bibliografía

- Becklund, W.W. 1963. *Lamanema chavezii* gen. n., sp. n. and *Nematodirus lamae* sp. n. (Nematoda: Trichostrongylidae) from the alpaca, *Lama pacos*, and the vicuña, *Vicugna vicugna*, in Peru. J. Parasitol. 49, 1023-1027.
- Alcaíno, H., Gorman, T. y Burgos, M. 1991. Helmintiasis gastrointestinal en llamas (*Lama glama*) de la I Región de Chile. Parasitología al día (Chile) 15: 93-96.
- Beldomenico, P.M., Uhart, M., Bono, M.F., Marull, C., Baldi, R. and Peralta, J.L. 2003. Internal parasites of free-ranging guanacos from Patagonia. Vet. Parasitol. 118: 71-77.
- Cafune, M.M.; Marín, R.E.; Aguirre, D.H. 2006. Hallazgo de *Camelostongylus mentulatus* (Nematoda: Trichostrongyloidea) en una llama (*Lama glama*) de Jujuy, Argentina. Res. 4º Cong. Mundial de Camélidos, Santa María, Catamarca, Argentina, p. 74-75.
- Cafune, M.M., Marín, R.E., Rigalt, F.A., Romero, S.R. and Aguirre, D.H. 2009. *Lamanema chavezii* (Nematoda: Molineidae): Epidemiological data of the infection in South American camelids of Northwest Argentina. Vet. Parasitol. 166: 321-325.

DISÍMIL INFESTACIÓN PARASITARIA EN VICUÑAS (*Vicugna vicugna*) SILVESTRES DE DOS ÁREAS DE LA PUNA ARGENTINA

Cafrune, M.M.¹; Viñabal, A.E.¹; Romero, S.R.²; Rigalt, F.A.³; Aguirre, D.H.¹
¹INTA – CIAP – IIACS Leales/ E.E.A. Salta; ²INTA – IPAF- NOA; ³INTA – E.E.A. Catamarca

Introducción

Las parasitosis de los camélidos sudamericanos (CS) han sido más estudiadas en las especies domésticas (alpacas, llamas) que en las silvestres (guanacos, vicuñas). Así, la información sobre los parásitos que afectan a las vicuñas sigue siendo relativamente escasa. Este trabajo compara resultados de la infestación por parásitos internos y externos, obtenidos en capturas de vicuñas silvestres realizadas en dos áreas de la Puna argentina (Catamarca y Jujuy).

Materiales y Métodos

A fines de 2014 se capturaron vicuñas adultas silvestres de Catamarca (Ojo de Calalaste, 25°42'S, 67°31'O, 4.410 m.s.n.m., Dpto. Antofagasta de la Sierra) y de Jujuy (Escobar, 22°22'S, 65°20'O, 4.046 m.s.n.m., Dpto. Yavi). Ambos sitios se ubican en la provincia fitogeográfica de la Puna, difiriendo en su régimen pluvial: alrededor de 70 mm anuales en Calalaste y 370 mm anuales en Escobar. En cada captura se tomaron muestras de heces del recto para análisis coprológicos en el laboratorio y se examinó la superficie corporal de los animales buscando lesiones dérmicas y/o presencia de ectoparásitos. Las muestras de heces de Catamarca ($n = 15$) se procesaron por dos técnicas: 1) McMaster modificada para cuantificar el número de huevos de nematodos tricostrongílicos (HPG) y el de ooquistes de coccidios (OPG) por gramo de heces y 2) sedimentación-flotación con SO_4Zn para diagnóstico de *Fasciola hepatica* y de otros huevos de helmintos y ooquistes de coccidios de mayor peso específico. Las cuentas de huevos y ooquistes se multiplicaron por 20 y por 200, respectivamente, para establecer su número por gramo de heces (HPG, OPG). Las muestras de Jujuy ($n = 17$) se procesaron solo por la segunda técnica, aunque se realizaron además coprocultivos para taxonomía de larvas (L3) de nematodos tricostrongílicos. La prevalencia de las nematodiasis se calculó por el número de vicuñas infestadas en relación al total estudiado en cada población, mientras que la intensidad de la infestación por cada especie de nematode o de coccidio se expresó por la media aritmética de los respectivos HPG u OPG en las vicuñas infestadas. Los ejemplares de garrapatas recolectados se identificaron con claves disponibles.

Resultados

En ambas poblaciones, la coprología mostró ausencia de huevos de *F. hepatica*, trematode que en ocasiones es responsable de infestaciones de cierta relevancia en vicuñas. La presencia de huevos de nematodos fue escasa en Catamarca, donde ninguna vicuña exhibió huevos de tricostrongílicos, hallándose únicamente huevos de *Capillaria* sp. en cuatro vicuñas (26,7%) y de *Trichuris* sp. en una de ellas (6,7%). Por el contrario, su abundancia fue marcada en Jujuy, donde se registró la presencia de huevos de *Lamanema chavezii*, *Trichuris* sp., *Capillaria* sp. y *Nematodirus* sp., con prevalencias de 70,6%, 58,8%, 23,5% y 17,6%, respectivamente. A su vez el 58,8% de estas vicuñas mostró una baja cantidad de huevos de tricostrongílicos, cuyas L3 correspondieron a los géneros *Trichostrongylus* (71%), *Chabertia* (12%), *Teladorsagia* (11%) y *Haemonchus* (6%). La intensidad media de la infestación por nematodos en Jujuy fue moderada para *L. chavezii* ($576,7 \pm 688,1$ HPG) y *Trichuris* sp. ($264,0 \pm 301,1$ HPG) y baja para *Capillaria* sp. y *Nematodirus* sp. (20,0 HPG en ambos). A su vez, en Catamarca la intensidad media también fue baja para *Capillaria* sp. ($35,0 \pm 19,1$ HPG) y *Trichuris* sp. (40,0 HPG). En las vicuñas capturadas en Jujuy ($n = 198$) se recolectaron 53 ejemplares de garrapatas, que se identificaron como estadios adultos de *Amblyomma parvitarsum* (35 hembras, 18 machos).

Discusión

L. chavezii se reconoce como el nematode más patógeno entre los considerados propios de los CS. Las larvas de 3° y 4° estadio de *L. chavezii* realizan una migración entero-hepática, causal de enteritis catarral y hemorrágica con áreas necróticas en la mucosa. En infestaciones agudas, se produce congestión hepática, con múltiples focos pequeños de necrosis coagulativa y hemorragias petequiales. Los signos de la infestación con *L. chavezii* incluyen anemia, anorexia, emaciación y postración. Previamente informado en llamas y guanacos locales, *L. chavezii* no había sido registrado aún en vicuñas de la Argentina. Hasta hace poco era reconocido en cuatro países sudamericanos: Argentina, Bolivia, Chile y Perú, sólo en este último parasitando a vicuñas. Más tarde, fue reportada su presencia en CS domésticos de Nueva Zelanda y de los EEUU de América.

Es probable que los otros huevos de nematodos observados correspondan a especies propias de los CS: el *Trichuris tenuis*, que los CS comparten con los camélidos del Viejo Mundo, el *Nematodirus lamae*, todavía no informado en la Argentina, y una especie aún indeterminada de *Capillaria*, género del cual - como para *Trichuris*- se han hallado huevos en momias de CS domésticos del Perú que avalan su existencia previa a la colonización española. El *T. tenuis* fue diagnosticado en todas las especies locales de CS. Los huevos de *Trichuris* sp. predominan marcadamente por sobre las otras especies de nematodos, tanto en llamas como en vicuñas de la Argentina, y se especula que su asociación con *L. chavezii* puede implicar una severa acción deletérea para los CS domésticos y, eventualmente, los silvestres. Los huevos de *Capillaria* se registran con cierta frecuencia –pero baja intensidad- en llamas, alpacas y vicuñas, tanto en sus ambientes propios como fuera de ellos. La presencia de nematodos de este género se informó además en guanacos de Río Negro.

La prevalencia de ooquistes de *Eimeria* fue muy baja en ambos grupos de vicuñas: 26,7% (Catamarca) y 11,8% (Jujuy), en infecciones únicas por *E. punoensis* y *E. macusaniensis*, respectivamente. Asimismo, la intensidad media de la infección por coccidios fue muy baja en Catamarca, apenas 1.120 (\pm 722,9) OPG de *E. punoensis*. Esto contrastó con resultados previos tanto en vicuñas adultas silvestres como cautivas de la Argentina, que mostraron altas prevalencias de infecciones mixtas por varias especies de *Eimeria*, a menudo exhibiendo cargas parasitarias elevadas. Al presente se reconocen cinco especies de *Eimeria* propias de los CS, que frecuentemente cursan infecciones simultáneas, entre las que *E. macusaniensis* se destaca como la más patógena.

Amblyomma parvitarsum cumple su ciclo en tres hospedadores, considerándose a los estadios adultos como bastante específicos de los CS, a los que se fijan habitualmente en la zona perianal e inguinal. Las larvas de esta garrapata han sido halladas parasitando a reptiles del género *Liolaemus*, mientras que los hospedadores de las ninfas son todavía desconocidos. Esta garrapata fue encontrada hasta ahora en CS de cuatro países: Argentina, Bolivia, Perú y Chile, en los tres primeros parasitando a vicuñas. Hasta 2014 el *A. parvitarsum* era registrado en 26 sitios de la Argentina, la mitad de ellos en Jujuy, a los que se suma el presente registro que representa la segunda colecta más numerosa antes registrada de estadios adultos de *A. parvitarsum* y la más abundante obtenida de vicuñas.

Este trabajo muestra una marcada disimilitud en la infestación parasitaria en poblaciones de vicuñas silvestres de diferentes zonas de la Puna argentina. Es probable que las diferencias respondan, en parte al menos, a mejores condiciones ambientales para el parasitismo (interno y externo) en el área de Jujuy, consecuencia de la mayor humedad resultante del régimen de precipitaciones más elevado. La simpatria de las vicuñas jujueñas con llamas o rumiantes menores, que contribuyan a una mayor contaminación parasitaria del ambiente, podría ser otra explicación plausible para tales diferencias. Esa simpatria se confirmó por el hallazgo de larvas de géneros de nematodos parásitos de los pequeños rumiantes (*Trichostrongylus* y otros). En todo caso, los niveles de infestación parasitaria de las vicuñas de Escobar (Jujuy), opuestos a todos los precedentes locales de esta especie en silvestría, alertan sobre la magnitud que en ocasiones pueden alcanzar las parasitosis, comprometiendo la salud y, en definitiva, la supervivencia de ciertas poblaciones de vicuñas.

Bibliografía

- Cafrune, M.M.; Aguirre, D.H. and Rickard, L.G. 1999. Recovery of *Trichuris tenuis* Chandler, 1930, from camelids (*Lama glama* and *Vicugna vicugna*) in Argentina. J. Parasitol. 85: 961-962.
- Cafrune, M.M.; Aguirre, D.H. and Rickard, L.G. 2001. First report of *Lamanema chavezii* (Nematoda: Trichostrongyloidea) in llamas (*Lama glama*) from Argentina. Vet. Parasitol. 97: 165-168.
- Estrada-Peña, A.; Venzal, J.M.; Mangold, A.J.; Cafrune, M.M. and Guglielmone, A.A. 2005. The *Amblyomma maculatum* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae: Amblyomminae) tick group: diagnostic characters, description of the larva of *A. parvitarsum* Neumann, 1901, 16S rDNA sequences, distribution and hosts. Syst. Parasitol. 60: 99-112.
- Muñoz-Leal, S.; González-Acuña, D.; Beltrán-Saavedra, L.F., Limachi, J.M. and Guglielmone, A.A. 2014. *Amblyomma parvitarsum* (Acari: Ixodidae): localities, hosts and host-parasite ecology. Exp. Appl. Acarol. 60: 99-112.

HALLAZGOS PARASITOLÓGICOS EN GUANACOS (*Lama guanicoe*) DIAGNOSTICADOS EN EL LABORATORIO DE PARASITOLOGÍA DE LA EEA INTA BARILOCHE (2001-2010)

Olaechea, F.; Larroza, M.; Raffo, F.; Cabrera R.
INTA Bariloche

Introducción

El guanaco (*Lama guanicoe*) y la vicuña (*Vicugna vicugna*) son las dos especies de camélidos silvestres presentes en Sudamérica, ambos con vellones de gran valor comercial. En la Región Patagónica el aprovechamiento comercial del guanaco se realiza mediante la captura y esquila de animales silvestres o bajo condiciones de semicautiverio. Esto determina la incorporación de manejos que alteran sus hábitos y favorecen el contacto con el ganado doméstico, aumentando las oportunidades de transmisión de parasitosis. Con el objetivo de actualizar la información existente sobre los endo y ectoparásitos que afectan a las poblaciones de guanacos en el NO de la Patagonia, se llevó a cabo un estudio retrospectivo de los análisis realizados en el Laboratorio de Parasitología de la EEA INTA Bariloche durante el período 2001-2010.

Materiales y Métodos

Se revisaron 622 análisis de animales provenientes de 14 establecimientos de las provincias de Neuquén, Río Negro y Chubut (Figura 1), 10 de ellos bajo sistemas de semicautiverio y 4 con captura temporal de animales silvestres, estableciendo las categorías de juveniles (animales de hasta 18 meses) y adultos (mayores de 18 meses).

Figura 1. Zonas de origen de las muestras analizadas.



Sobre el total de análisis, 615 correspondieron a exámenes de materia fecal: conteo de huevos por gramo de endoparásitos gastrointestinales (hpg), sedimentación-filtración para la determinación de *Fasciola hepática* (Fh) y cultivo de larvas, mientras que los 7 restantes fueron hallazgos de necropsias. También se recopilaron datos de identificación de ectoparásitos

Resultados

En el Cuadro 1 pueden observarse los resultados de los promedios de hpg: los valores en animales jóvenes (102,2) fueron aproximadamente el doble que en adultos (50,1). En el caso de animales positivos a Fh la situación se invierte: el 33,6% de animales adultos tuvo presencia de huevos de Fh, mientras que en los juveniles este porcentaje fue de 14,1%. En la mayoría de las muestras analizadas se observaron coccidios, en general con bajas cargas, identificando frecuentemente *Eimeria macusaniensis*.

Cuadro 1. Análisis de materia fecal en guanacos juveniles y adultos: conteos de huevos por gramo (hpg): promedio y rango, y porcentaje de positividad a *Fasciola hepática* (Fh).

	Promedio hpg (n)	Rango hpg	Porcentaje de positividad a Fh (n)*
Guanacos juveniles	102,2 (180)	0-890	14,10% (168)
Guanacos adultos	50,1 (417)	0-840	33,6% (426)

n: Número de muestras analizadas

*la presencia de Fh fue observada en 5 de 11 (45%) establecimientos analizados.

Con respecto a los cultivos de larvas (n: 31), los géneros identificados en orden de prevalencia fueron: *Nematodirus spp.*, *Ostertagia spp.*, *Trichostrongylus spp.* y *Cooperia spp.* En todas la necropsias realizadas (n: 7) se recuperaron e identificaron ejemplares de *Nematodirus* (*N. spathiger*, *N. oiriatianus*, *N. filicolis* y *N. abnormalis*), y en algunos casos también se observaron *Ostertagia trifurcata*, *O. ostertagi*, *Cooperia oncophora*, *Trichostrongylus colubriformis*, *Trichuris spp.*, *Dictyocaulus spp.* y *Moniezia spp* (Figuras 2.a, b, c y d).

Otro hallazgo de necropsia fue el de sarcoporioidosis (*Sarcocystis spp.*) (Figura 4)

Figuras 2.a. *Nematodirus spathiger*, **b.** *Nematodirus oiratianus*, **c.** *Ostertagia trifurcata* **d.** *Ostertagia ostertagi*



Fig. 2. a



Fig. 2. b



Fig. 2. c



Fig. 2. d

Los ectoparásitos observados e identificados fueron piojos chupadores del género *Microthoracius* (*M. praelongiceps*, *M. minor* y *M. mazzai*) y masticadores (*Bovicola spp.*) (Figuras 3.a, b y c). En cuanto a los aspectos clínico-productivos se registraron mortandades por fasciolosis aguda y coccidiosis en chulengos, decomiso de carne por sarcosporidiosis en faenas esporádicas y sintomatología de prurito, rascado e irritación con pérdida de pelo por pediculosis.

Figuras 3.a. *Microthoracius praelongiceps*, **b.** *Microthoracius minor*, **c.** *Microthoracius mazzai*.



Fig. 3. a

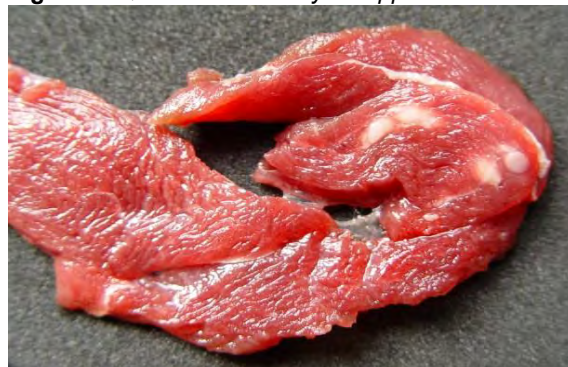


Fig. 3. b



Fig 3. c

Figura 4. Quistes de *Sarcocystis spp*



Discusión

La mayoría de los parásitos descritos no estuvieron relacionados con la observación de síntomas clínicos. Excepto para las sarcosporidiosis en guanacos silvestres, los casos de parasitosis fueron diagnosticados en establecimientos de cría.

Conclusión

En el presente trabajo se describieron los hallazgos parasitológicos de poblaciones de guanacos, en su mayoría pertenecientes a sistemas de cría en semicautiverio. Esto implica cierta superposición de hábitats con especies domésticas, favoreciendo el contacto con las mismas, lo cual determina un aumento de las oportunidades de transmisión de parasitosis (Ezenwa *et al.*, 2006). Futuros estudios realizados sobre poblaciones de guanacos silvestres podrán aportar información sobre las especies parasitarias en ambientes naturalmente habitados por otras especies, principalmente ovinos (Baldi *et al.*, 2001).

Bibliografía

- Ezenwa, V. O. 2004. Interactions among host diet, nutritional status and gastrointestinal parasite infection in wild bovids. *International Journal for Parasitology* 34:535-542.
- Baldi, R.; Albon; S. D; Elston D. A. 2001. Guanacos and sheep: evidence for continuing competition in arid Patagonia. *Oecologia* 129:561-570.
- Leguía, Guillermo; Casas, E. 1999. Enfermedades parasitarias y atlas parasitológico de camélidos sudamericanos. Ed. Del Mar.

***Lamanema chavez* (Nematoda: Molineidae): DATOS EPIDEMIOLÓGICOS DE LA INFESTACIÓN EN CAMÉLIDOS SUDAMERICANOS DEL NOA**

Cafrune, M.M.¹; Marín, R.E.²; Rigalt, F.A.³; Romero, S.R.⁴; Aguirre, D.H.¹
¹INTA Salta; ²Ministerio de Producción y Medio Ambiente, Gobierno de Jujuy; ³INTA Catamarca;
⁴INTA Abra Pampa

Introducción

Los camélidos sudamericanos (CS), domésticos (alpacas y llamas) y silvestres (vicuñas y guanacos) son parasitados por *Lamanema chavez*, nematode considerado específico de ellos y uno de los pocos en que las larvas parasíticas de 3er. y 4° estadio realizan una migración entero-hepática, lo cual le otorga gran patogenicidad. La mayoría de los hallazgos de *L. chavez* se hicieron tras necropsias de CS en países sudamericanos. Sin embargo, sus huevos son tan típicos que se diferencian sin dificultad de otras especies de nematodos de los CS, facilitando el diagnóstico coprológico. Este trabajo presenta resultados basados en coprología sobre la infestación con *L. chavez* en CS adultos del Noroeste argentino (NOA).

Materiales y Métodos

Entre marzo 2006 y mayo 2009 se obtuvieron muestras de heces *per rectum* de llamas de tres provincias del NOA (Jujuy, Salta y Catamarca). Adicionalmente se muestrearon vicuñas en diciembre 2004 (Salta), mayo 2008 (Jujuy) y diciembre 2008 (Catamarca). En setiembre 2005, se colectaron cuatro muestras de heces frescas en 'bosteaderos' de una población de guanacos de Salta. En conjunto se muestrearon CS de 17 Departamentos (siete de Jujuy, seis de Salta y cuatro de Catamarca). Todas las llamas y la mayoría de las vicuñas muestreadas fueron adultas (> 1 año de edad). La edad de los guanacos no se determinó.

Las muestras se procesaron por la técnica de sedimentación-flotación descrita por Cafrune *et al.* (2009). Los huevos de *L. chavez* se contaron para determinar el número por gramo de heces (HPG).

Las prevalencias se calcularon por el número de rebaños y de CS infestados respecto del número total estudiado. La intensidad media de la infestación se estableció por la media aritmética de HPG de *L. chavez* en los CS infestados.

Resultados

La Tabla 1 presenta las prevalencias a nivel de rebaños e individual y la intensidad media de la infestación por *L. chavez* en los CS evaluados. Las llamas de Catamarca mostraron los valores más altos para todos los parámetros de la infestación. Sólo se detectaron diferencias significativas entre la menor prevalencia individual en llamas de Jujuy respecto de las de Salta y Catamarca. Seis de los nueve rebaños de llamas infestados en Catamarca correspondieron al Departamento Santa María. *L. chavez* se diagnosticó en los guanacos pero no en las vicuñas. Los rebaños de CS infestados se distribuyeron en 11 (64,7%) de los 17 Departamentos.

La ubicación de los rebaños de CS infestados (n = 28) se muestra en la Figura 1 los cuales, salvo por las llamas de Chicoana (Salta), se situaron en el Dominio Andino Patagónico entre los 22° 10' y los 26° 40' de latitud Sur. Ninguno de los CS muestreados presentó signos clínicos de la infestación por *L. chavez*.

Tabla 1. Prevalencia (%) en rebaños e individuos e intensidad media (HPG y rango) de la infestación por *Lamanema chavez* en camélidos sudamericanos (CS) adultos de tres provincias del NOA.

Especie	Provincia	Rebaños Nº infectados/ nº examinados	CS Nº infectados/ nº examinados	HPG (rango)
Llama	Jujuy	17/57 (29,8) ^{aa}	76/543 (13,9) ^a	213,2 ^a (20 -1600)
	Salta	1/7 (14,3) ^a	19/60 (31,7) ^b	312,6 ^a (20 -1920)
	Catamarca	9/25 (36,0) ^a	36/105 (34,3) ^b	373,9 ^a (20 -2120)
	<i>Total</i>	27/89 (30,3)	131/708 (18,5)	271,8 (20 -2120)
Vicuña	Jujuy	0/1 (0)	0/63 (0)	
	Salta	0/1 (0)	0/98 (0)	
	Catamarca	0/1 (0)	0/10 (0)	
	<i>Total</i>	0/3 (0)	0/171 (0)	
Guanaco	Salta	1/1 (100)	3/4 (75,0)	66,0 (40-120)

* Números que no comparten la misma letra en cada columna son significativamente diferentes (P < 0,001; test de Fisher y de Kruskal-Wallis).

Figura 1. Mapa del Noroeste argentino mostrando la ubicación de los rebaños de llamas (●) y guanacos (▲) infestados por *L. chavezii*.



Discusión

Los estudios sobre distribución de *L. chavezii* son escasos. Es presumible que este nematode tenga amplia dispersión en Perú, en tanto su presencia en Chile parece restringida a la 1ª Región. Un trabajo reciente en Bolivia informa el hallazgo de *L. chavezii* en cuatro Departamentos de ese país. El primer hallazgo del nematode en CS de Argentina fue en una llama de Yavi, Jujuy, en 2001. Luego se detectaron huevos de *L. chavezii* en llamas de cinco Departamentos de Jujuy. Este trabajo amplía los hallazgos coprológicos a llamas de Catamarca y a llamas y guanacos de Salta. Más aún, el registro actual en guanacos es el primero de Argentina. Pese a varios estudios en guanacos patagónicos es curioso que *L. chavezii* no se haya notificado en ellos, siendo que esa región del país mantiene más de medio millón de CS de dicha especie.

Excepto por las llamas de Chicoana, Salta, todos los CS infestados por *L. chavezii* se ubicaron en el Dominio Andino Patagónico, principal región de distribución de CS en la Argentina. Aun así, la prevalencia e intensidad de la infestación por *L. chavezii* observada en Chicoana, sugiere que este nematode podría prosperar exitosamente en otros ambientes.

La prevalencia individual de *L. chavezii* en necropsias de alpacas de Perú y llamas de Chile y Bolivia fue de 48,2%, 61,3% y 64,0%, respectivamente. Estudios coprológicos en alpacas y llamas de Chile indicaron una prevalencia individual de *L. chavezii* de 32,0% y 26,6%, respectivamente, similares a los datos actuales en llamas de Catamarca y Salta.

Los datos actuales indican también cierta heterogeneidad en la ocurrencia de *L. chavezii*, con prevalencias disímiles (rebaño e individual) en los distintos lugares de estudio. Así, la mayor prevalencia en Santa María (Catamarca) contrastó con la situación de Cochinoca (Jujuy), donde solo cuatro de 27 rebaños de llamas se detectaron infestados. En ciertos casos, la infestación por *L. chavezii* aparece concentrada a nivel de rebaño, como indica la similitud de ambas prevalencias (rebaños e individual) en las llamas de Catamarca (Tabla 1). En coincidencia, Spörndly y Nissen (2008) informaron diferencias estadísticamente significativas en la carga de *L. chavezii* entre rebaños de llamas de Bolivia. Esta distribución en 'clusters' adquiere importancia para rebaños libres de este nematode, en los cuales debería evitarse la introducción de CS sin monitoreo previo de la infestación con *L. chavezii*.

A pesar del potencial patogénico de *L. chavezii* no se registraron CS con signos de la infestación. Este hecho podría explicarse por la baja prevalencia general en llamas (18,5%), así como por la moderada intensidad de la infestación por *L. chavezii*. Serían necesarios trabajos adicionales, como por ejemplo estudios de cohorte en rebaños infestados, para evaluar los efectos deletéreos de la infestación por *L. chavezii* en CS del NOA.

Bibliografía

- Guerrero, C.A., Alva, J., Vega, I., Hernández, J. y Rojas, M. 1973. Algunos aspectos biológicos y patológicos de *Lamanema chavezii* en alpacas, *Lama pacos*. Rev. Inv. Pec. IVITA (Perú) 2, 29-42.
- Cafirne, M.M., Aguirre, D.H. and Rickard, L.G. 2001. First report of *Lamanema chavezii* (Nematoda: Trichostrongyloidea) in llamas (*Lama glama*) from Argentina. Vet. Parasitol. 97, 165-168.
- Cafirne, M.M., Salatin, A.O. y Aguirre, D.H. 2008. Eficacia comparada de dos técnicas coprológicas para el diagnóstico de *Lamanema chavezii* en llamas. Res. 17ª Reun. Anu. Asoc. Arg. Vet. Lab. Diag., Santa Fe, Argentina, P 5.
- Spörndly, E. and Nissen, A.M. 2008. Prevalence of parasites in llamas in the Andean Bolivia. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad de Copenhague, Dinamarca, 70 pp.

***Sarcocystis aucheniae* EN LLAMA (*Lama glama*) DE LAGUNA BLANCA, CATAMARCA, ARGENTINA**

Cardozo P.¹; Decker Franco C.^{2,4}; Cantón G.³; Rojas M.¹; Florín Christensen M.^{2,4}; Cora J.³; Luque, S.⁴; Rigalt, F.¹; Lloberas M.³

¹Campo Experimental Santa Cruz INTA EEA Catamarca; ²CICVyA INTA Castelar; ³Grupo Sanidad Animal. INTA EEA Balcarce; ⁴CONICET

Introducción

La producción de llamas representa una oportunidad invaluable en el aprovechamiento de la vegetación autóctona de la región, y dado que tiene gran versatilidad de usos, es un pilar fundamental en la economía de subsistencia de las familias de la región.

La carne posee altos niveles proteicos, un tenor graso y niveles de colesterol considerablemente bajos. En la cocina gourmet es considerada un producto escaso y poco convencional, tiene un gran potencial de mercado, ya sea como cortes de carne o manufacturado. La producción de llamas representa un recurso natural estratégico, de gran trascendencia social, económica y ecológica en la subsistencia de las familias de la puna Argentina.

La sarcocistiosis es una enfermedad parasitaria, zoonótica que resulta del consumo de carne infestada cruda o insuficientemente cocida, y se manifiesta con gastroenteritis, náuseas, diarrea y cólicos (Leguía, 1991). En camélidos sudamericanos (CS), se conoce vulgarmente como “arrocillo” y es causada por la infección de protozoos del género *Sarcocystis* spp. Los CS son hospedadores intermediarios que adquieren la enfermedad al ingerir pasto o agua contaminados con ooquistes, mientras que los hospederos definitivos son los perros o cánidos silvestres, quienes liberan al medio las formas infectantes. Las especies de *Sarcocystis* identificadas en CS son *S. aucheniae* y *S. lamacanis*, ambos de ciclo heteroxeno. En Argentina, Cafrune (2001) reportó la presencia de macroquistes en llamas. El agente etiológico fue luego identificado como *S. aucheniae* por métodos moleculares.

El objetivo del trabajo fue describir e identificar los macroquistes del esófago y músculo de una llama de la puna catamarqueña durante una faena exploratoria.

Materiales y Métodos

Se realizó la eutanasia y posterior necropsia de una llama adulta, de 10 años de edad, sin signos aparentes de enfermedad. Durante la misma se registraron los hallazgos patológicos macroscópicos y se recolectaron muestras de tejido que fueron fijados en formol bufferado al 10% y 3% de glutaraldehído para realizar

estudios histopatológicos de rutina (tinción de hematoxilina y eosina). Algunos quistes fijados con glutaraldehído fueron además observados mediante microscopía electrónica de barrido (MEB) para su caracterización morfológica. Adicionalmente, algunos macroquistes identificados en tejido muscular se refrigeraron y posteriormente se realizó la extracción de ADN utilizando un kit comercial y se aplicó una técnica de PCR semianidada específica para *S. aucheniae* (Decker, 2015).

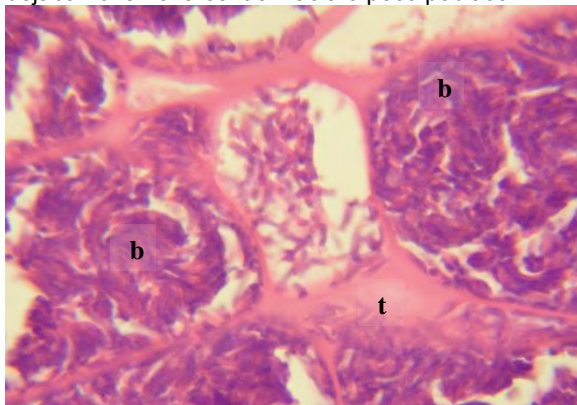
Foto 1. Macroquistes en musculatura del esófago.



Resultados

Durante la necropsia se identificaron macroquistes en músculo esquelético y esófago, de forma ovalada, blanquecinos, de hasta 0.8 cm de largo, con apariencia de grano de arroz. A lo largo de todo el esófago se observó una gran cantidad de macroquistes, a razón de 4 a 6 por centímetro cuadrado. En músculo esquelético la densidad fue menor, concentrándose principalmente en la región cervical. En los estudios histopatológicos se observó la presencia de macroquistes que a partir de su cápsula externa surgían tabiques internos ramificados de distinto tamaño y grosor que se prolongaban hacia el centro, dando lugar a la formación de cámaras, en las que se encontraban paquetes de bradizoitos, y dejaban una zona central vacía o poco poblada. No se detectó una respuesta inflamatoria periférica importante. La observación de los quistes por MEB evidenció una cápsula externa rugosa y con circunvoluciones marcadas. Mediante análisis moleculares, se confirmó que el protozoo identificado en estos macroquistes fue *S. aucheniae*.

Foto 2. Histológicamente, los quistes presentaban una cápsula externa a partir de la que surgían tabiques internos (t) formando cámaras, en las que se encontraban paquetes de bradizoitos (b), y dejaban una zona central vacía o poco poblada.



Discusión

En la puna Argentina es una práctica habitual la faena domiciliaria, en condiciones precarias. En estos ambientes se reporta una prevalencia cercana al 100% de macroquistes en camélidos sudamericanos, sumado a una estrecha convivencia de los perros con camélidos, como así también la alimentación de aquellos con carne cruda infectada con este protozoo, hace que el ciclo se mantenga (Deker, 2015).

Se identificó a *S. aucheniae* como el agente etiológico causante de “arrocillo” en esta llama de la región de la puna catamarqueña, coincidente con lo reportado por Carletti (2013). La estructura de los macroquistes fue semejante a la descrita por Taype (2004). Son de forma ovoide o esférica, poseen una cápsula con digitaciones externas, de la cápsula se desprenden tabiques incompletos dirigidos al centro, entre los que se ubican los paquetes de parásitos. Los macroquistes se localizan en músculos del cuello, esófago, grandes masas de los miembros, intercostales y diafragma.

Si bien la carne de llama está incluida en la Ley Federal de Carnes, aún no hay plantas de faena habilitadas para camélidos. Esto atenta contra la producción y comercialización de este producto, dado que además de ser una fuente de proteína para los pobladores, es un producto atractivo para la cocina gourmet.

La sarcocistiosis es una problemática social, para lo que es necesario ampliar los estudios en cuanto a epidemiología de la enfermedad, para lograr mejorar las condiciones sanitarias de la cría y faena. En estas zoonosis es fundamental el equipo multidisciplinario para abordar la problemática.

Bibliografía

- Cafrune M, Aguirre D, Rickard L, First report of *Lamanema chavezii* (Nematoda: *Trichostrongyloidea*) in llama (*Lama glama*) from Argentina. *Vet. Par.* 2001 Vol. 97 (2) 165-168.
- Carletti T, Martin M, Romero S, Morrison D, Mrcoppido G, Florin Chistensen M, Schnittger L, Molecular identification of *Sarcocystis aucheniae* as the macrocyst-forming parasite of llamas. *Vet. Par.* 2013 198. 396 - 400.
- Decker Franco C, Schnittger L, Florin-Christensen M, Desarrollo de una PCR semianidada dúplex para la detección de ADN de *Sarcocystis aucheniae* en muestras de sangre de llama. 2015 XXVII Reunión de la Sociedad Argentina de Protozoología, Buenos Aires.
- Leguía G, Enfermedades Parasitarias. Capítulo IX. En: avances y perspectivas del conocimiento de los Camélidos Sudamericanos. Fernández Baca, 1991 (ed.). Of. Reg. FAO para América latina y el Caribe, Santiago, Chile.
- Taype L, Vélez V, Días G, Torres J, Fernán-Zegarra J, Zegarra J, 2004. Descripción de la estructura y ultraestructura de la pared primaria del *Sarcocystis auchinae* hallados en alpaca (*Vicugna pacos*) en la comunidad de Tocra-Arequipa. *Res. Prod. An. Piura*, Perú.

SEROPOSITIVIDAD A *Sarcocystis* EN LLAMAS CORRELACIONADA A PRÁCTICAS DE MANEJO

Romero, S.R.¹; Carletti, T.²; Decker Franco, C.²; Moré, G.^{3,4}; Schnittger, L.^{2,4}; Florin-Christensen, M.^{2,4}

¹Instituto de Investigación y Desarrollo Tecnológico para la Agricultura Familiar Región NOA INTA Hornillos;

²Instituto de Patobiología (CICVyA), INTA, Hurlingham; ³Laboratorio de Inmunoparasitología, FCV, UNLP;

⁴CONICET, Buenos Aires

Introducción

Los camélidos sudamericanos domésticos (llamas y alpacas) se producen en Argentina, Chile, Bolivia, Perú, y Ecuador. Suman una población de aproximadamente 7 millones de animales (De Lamo, 2011). Hoy en día, la mayor proporción de CS domésticos son criados en pequeña escala por las familias rurales de los andes, con las prácticas de pastoreo extensivo y escasos controles sanitarios. Sin embargo existen también establecimientos productivos de CS en regiones no andinas con otras modalidades de manejo. En Argentina el CS doméstico por excelencia es la llama (*Lama glama*) y uno de sus principales productos es la carne. La producción de carne de llama en las comunidades rurales puneñas se ve afectada en gran medida por *Sarcocystis spp.* Una de las especies, *Sarcocystis aucheniae* produce quistes macroscópicos (1-5 mm de largo) en el músculo esquelético (Carletti *et al.*, 2013; Rooney *et al.*, 2014; Martín *et al.*, 2016; Moré *et al.*, 2016). Recientemente, se ha descrito una nueva especie, *S. masoni*, que producen quistes microscópicos en CS de Argentina y Perú (Moré *et al.*, 2016). Como consecuencia de este parasitismo, a menudo resulta, la disminución del precio de la carne o su decomiso (Rooney *et al.*, 2014). En Argentina, la producción y comercialización de carne de llama no ha desarrollado todo su potencial manteniendo todavía cierta informalidad y poca tecnología (Echenique *et al.*, 2015). Sin embargo, tiene amplias perspectivas de mejora, y se beneficiaría significativamente estandarización de métodos de evaluación y control sanitarios. Este trabajo analiza si la presencia de anticuerpos anti-*Sarcocystis spp.* en llamas está influenciada por factores como la región geográfica y / o el manejo del ganado camélido. Para ello se utilizó una técnica diagnóstica indirecta (ELISAi) desarrollada a partir de una fracción de proteína inmunogénica de *S. aucheniae*.

Materiales y Métodos

Para este propósito, se desarrolló un ELISA indirecto que se creó en base a una fracción de proteína inmunogénica soluble 23 kDa (SA23), aislada de macroquistes de *S. aucheniae* (SA23-IELISA). Las muestras de suero (n =

507) se obtuvieron de llamas criadas bajo tres condiciones diferentes de manejo: (i) en establecimientos de agricultores familiares de la puna de Argentina, sin o escasos controles sanitarios y con presencia de perros pastores, (grupo I, n = 237) , (ii) en una Estación Experimental Agropecuaria ubicada en la puna de Argentina con controles sanitarios, infraestructura ganadera y sin uso de perros pastores (Grupo II, n = 167), y (iii) en establecimientos extra puna (Región Pampeana de Argentina) con controles sanitarios, infraestructura y sin manejo con perros pastores. (Grupo III, n = 103). Los resultados de la SA23-iELISA se expresaron como porcentajes de positividad. Un grupo significativo de sueros fueron analizados con IFAT (técnica de inmunofluorescencia indirecta) según Moré *et al.*, 2007. La línea de corte se determinó como el promedio de los porcentajes de positividad de sueros de llama negativos a la prueba de IFAT más 2 desviaciones estándar.

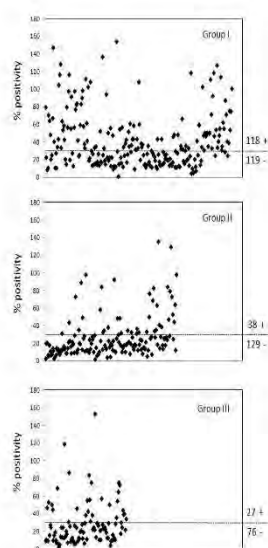
Foto 1. Agricultor familiar de la puna argentina acompañado de dos ejemplares de llama y un perro pastor.



Resultados

El porcentaje de sueros que cayó por encima de la línea de corte (31,5% de positividad) en el grupo (i) fue significativamente mayor ($p < 0,001$) que los de los grupos (ii) y (iii) (50% vs 23% y 26%, respectivamente). Comparativamente los porcentajes de prevalencia entre los grupos ii y iii no mostraron diferencias significativas.

Gráfico 1. Distribución de los porcentajes de positividad de los sueros analizados (por grupo i; ii; iii) en relación a la línea de corte determinada.



Discusión

En primer lugar este trabajo presenta un ELISAi para la detección de anticuerpos anti *sarcocystis aucheniae* en camélidos sudamericanos.

Los resultados encontrados indican que las prácticas de manejo constituyen uno de los factores de riesgo crítico para la prevalencia de sarcocistiosis en llamas. Las diferencias en estas prácticas incluyen la presencia de caninos domésticos y el acceso de los mismos a carne de llama cruda infectada, con el consiguiente mantenimiento del ciclo de vida de los parásitos por la contaminación de los pastos y el agua con ooquistes / esporocistos-fecales Choque *et al.*, 2007). Además, la itinerancia de los rebaños de llamas en busca de pastos y fuentes de agua en determinadas épocas del año podría exponer a los animales a focos infecciosos. También la presencia en la zona de pastoreo de canidos silvestres como el zorro incrementaría el riesgo de contaminación de las pasturas. Por otra parte, los porcentajes de seropositividad de llamas provenientes de un manejo más controlado en la Puna o en la Región Pampeana no fueron significativamente diferentes, lo que sugiere que las características del clima, altitud y / o pasto no influyen en el grado de parasitismo con *Sarcocystis* en las llamas.

Dado que los signos clínicos en el huésped intermediario son raros y el hallazgo de la infección por *Sarcocystis* normalmente se realiza post mortem, la disponibilidad de una prueba serológica puede ser una herramienta útil para la detección y estudio de esta parasitosis. La combinación de técnicas diagnósticas directas e Indirectas, en diferentes

etapas epidemiológicas, condiciones ambientales y de manejo permitirían caracterizar de manera más completa el ciclo del parásito en los CS locales y los factores predisponentes.

Foto 2. Ejemplar de llama bajo condiciones controladas de manejo.



Bibliografía

- Carletti, T., Martin, M., Romero, S., Morrison, D.A., Marcoppido, G., Florin-Christensen, M., Schnittger, L., 2013. Molecular identification of *Sarcocystis aucheniae* as the macrocyst-forming parasite of llamas. *Vet. Parasitol.* 198, 396-400.
- Choque J, Chavez A, Pacheco A, Leyva V, Panes S, Ticona D.2007. Frecuencia de *Sarcocystis* sp. en perros pastores de asociaciones alpaqueras de Marangani, Cusco. *Rev Inv Vet Perú* 18: 84-8.
- De Lamo, D. 2011. Camélidos Sudamericanos: Historia, usos y sanidad animal. Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria. Buenos Aires-Argentina. Cap. 1, 12-22.
- Echenique, M., Chavez, M., Vittar, M., Longoni, A., 2015. La producción y comercialización de carne de la agricultura familiar en la puna jujeña: análisis de sistemas ganaderos, tramas comerciales y marcos normativos para el diseño de estrategias de desarrollo. INTA Ediciones, Argentina ISBN 978-987-521-640-2.
- Martin M., Decker Franco C., Romero S., Carletti T., Schnittger L., Florin-Christensen M. (2016). Molecular detection of *Sarcocystis aucheniae* in the blood of llamas from Argentina. *Rev Argent Microbiol.* 48(3):200-205
- Moré, G., Basso, W., Bacigalupe, D., Venturini, M.C., Venturini, L., 2007. Diagnosis of *Sarcocystis cruzi*, *Neospora caninum*, and *Toxoplasma gondii* infections in cattle. *Parasitol. Res.* 102, 671-675.
- Rooney, A.L., Limon, G., Vides, H., Cortez, A., Guitian, J., 2014. *Sarcocystis spp.* in llamas (*Lama glama*) in Southern Bolivia: a cross sectional study of the prevalence, risk factors and loss in income caused by carcass downgrades. *Prev. Vet. Med.* 116, 296-304.

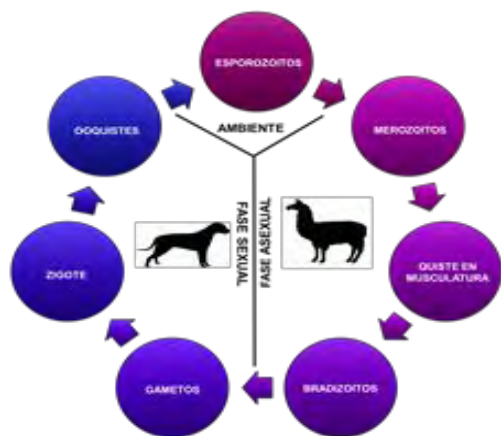
DESARROLLO DE UNA PCR SEMIANIDADA DÚPLEX PARA LA DETECCIÓN DE ADN DE *Sarcocystis aucheniae* EN MUESTRAS DE SANGRE DE LLAMA

Decker F.C.^{1,2}; Romero, S.³; Ferrari, A.^{2,4}; Mamani, R.⁵; Schnittger, L.^{1,2}; Florin-Christensen, M.^{1,2}
¹Instituto de Patobiología, INTA-Castelar; ²CONICET; ³IPAF, Hornillos, Prov. Jujuy; ⁴IDEHU-CONICET-UBA, Buenos Aires, Argentina

Introducción

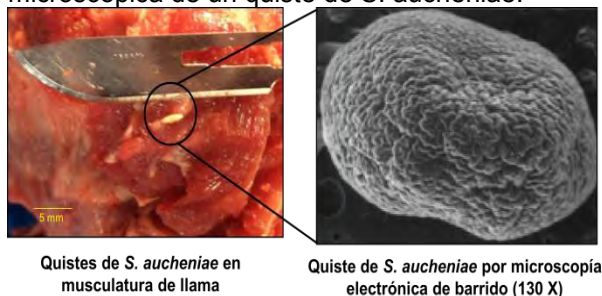
Sarcocystis aucheniae es un protozoo intracelular obligado que produce la parasitosis denominada sarcocistiosis en camélidos sudamericanos (CS). Este parásito presenta un ciclo de vida indirecto, es decir, requiere de dos hospedadores: El hospedador definitivo que es donde el parásito desarrolla su estadio sexual y el hospedador intermediario que es donde el parásito desarrolla su estadio asexual. Esto significa que parte de su vida la desarrolla en los CS, los hospedadores intermediarios, y otra parte en los cánidos, los hospederos definitivos (Foto 1).

Foto 1. Ciclo de vida de *Sarcocystis aucheniae*.



La sarcocistiosis de CS domésticos, da lugar a la formación de quistes macroscópicos (1-5 mm) similares a granos de arroz en los músculos de estos animales (Foto 2).

Foto 2. Observación macroscópica y microscópica de un quiste de *S. aucheniae*.



El consumo de carne infectada, cruda o insuficientemente cocida, puede producir en el hombre un cuadro de gastroenteritis que cursa con náuseas, diarreas y cólicos. Además, los quistes dan un aspecto desagradable a la carne que conduce a su desvaloración y/o

decomiso, por lo que tiene un impacto negativo para las economías que dependen de este tipo de ganado. Para ayudar al control de esta parasitosis, es importante contar con métodos de detección de las infecciones previo a la faena. En un trabajo anterior, demostramos que es posible detectar al parásito en sangre de CS mediante PCR. El objetivo del presente trabajo fue el desarrollo de un esquema mejorado de PCR con respecto al trabajo antes citado, para detectar simultáneamente ADN del parásito y del hospedador (Foto 3) en muestras de sangre, con alta especificidad y sensibilidad. Asimismo, se propuso aplicar este ensayo a un estudio epidemiológico preliminar en dos regiones de la Puna Argentina productoras de CS.

Foto 3. Hato de llamas en corral comunitario.



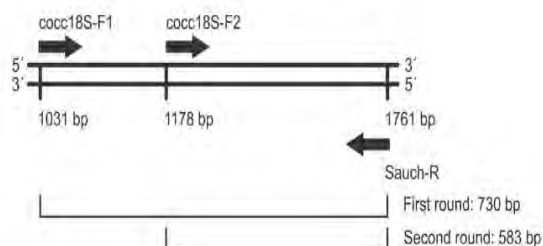
Materiales y Métodos

Se diseñó una PCR semianidada dúplex, empleando como secuencias blanco, secuencias específicas del gen 18S ARNr de *S. aucheniae* y el gen 16S ARNr mitocondrial de llama (*Lama glama*). La PCR se llevó a cabo en dos ciclos de amplificación siendo los primers forward, cocc18S-F1 y cocc18S-F2 (comunes a los coccidios), correspondientes a la primera y segunda ronda de amplificación, respectivamente, y el primer reverse, Sauch_R (específico de *S. aucheniae*), empleado tanto en la primera como en la segunda ronda de amplificación (Gráfico 1). Y finalmente los primers Lg_16SRNA_F y Lg_16sRNA_R (específicos de *L. glama*) que fueron empleados como control metodológico y de extracción. El ensayo se puso a punto con muestras de ADN extraídas de quistes del parásito y músculo de llama, para luego ser

aplicado a alícuotas de sangre de llama a las que se agregaron distintas cantidades conocidas de bradizoítos de *S. aucheniae*. Luego se analizaron un total de 158 muestras de sangre de llamas obtenidas de las provincias de Catamarca y Jujuy.

Los resultados obtenidos fueron tratados estadísticamente mediante el test Chi-cuadrado.

Gráfico 1. Diseño de la PCR semianidada dúplex.



Resultados

En el ensayo de sensibilidad se logró alcanzar un límite inferior de detección de 0.5 parásitos/ml de sangre donde en el segundo ciclo de la PCR (Gráfico 2) se obtuvieron fragmentos de ADN correspondiente al tamaño esperado tanto para el parásito como para el hospedador con 583 y 257 pb, respectivamente (Gráfico 3). A su vez, de las 158 muestras de campo analizadas, 21.52% resultaron positivas. El análisis estadístico no mostró diferencias significativas en cuanto a edad de los animales, sexo y provincia de muestreo.

Gráfico 2. Ensayo de sensibilidad de la PCR semianidada dúplex. Las calles 1 a 12 corresponden a 2 x 10⁵, 4 x 10⁴, 8 x 10³, 1.5 x 10³, 3 x 10², 60, 12, 2, 0.5, 0.01, 0.02 y 0, bradizoítos por mililitro de sangre, respectivamente. Q: ADN de *S. aucheniae*; L.g: ADN de *L. glama*; C(-): control negativo. M: marcador de ADN 1 kb Plus.

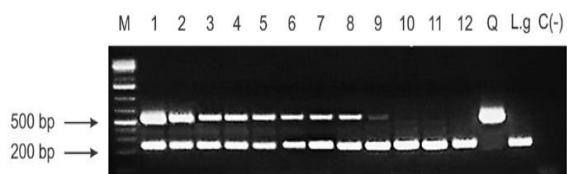
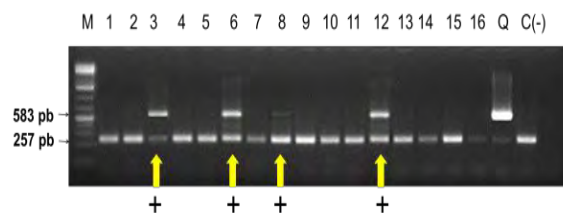


Gráfico 3. Amplificación de ADN de sangre de llamas del NOA por PCR semianidada dúplex.



Discusión

El método fue altamente sensible y específico, y aplicado con éxito a muestras de sangre de llamas de Argentina. Si bien el análisis estadístico no mostró diferencias significativas en cuanto a edad, sexo y procedencia de los animales, es necesario analizar mayor cantidad de muestras para poder hacer un relevamiento exhaustivo de infecciones por este parásito en CS de Argentina y países vecinos que permita conocer la situación epidemiológica de la sarcocistiosis de CS y así poder hacer el diseño de medidas de control.

Bibliografía

- Carletti, T., Martin, M., Romero, S., Morrison, D. A., Marcoppido, G., Florin-Christensen, M., Schnittger, L. 2013. Molecular Identification of *Sarcocystis aucheniae* as the macrocyst-forming parasite of llamas. *Veterinary Parasitology*. 198, 396-400.
- Martin, M., Decker, C., Romero, S., Carletti, T., Schnittger, L., Florin-Christensen, M. 2016. Molecular detection of *Sarcocystis aucheniae* in the blood of llamas from Argentina.
- Leguía, G. 1991. The Epidemiology and Economic Impact of Llama Parasites. *Parasitology Today*. Vol. 7, No 2.
- Leguía, G., E. Casas. 1999. Enfermedades parasitarias y atlas parasitológico de camélidos sudamericanos. Lima: La Mar. 30p.

PREVALENCIA Y ABUNDANCIA DE COCCIDIOS (*Eimeria* spp.) EN VICUÑAS (*Vicugna vicugna*) DEL ALTIPLANO ARGENTINO

Cafrune, M.M.¹; Romero, S.R.²; Aguirre, D.H.¹

¹INTA – CIAP – IIACS Leales/ E.E.A. Salta; ²INTA – E.E.A. Abra Pampa, Jujuy

Introducción

Cinco especies de *Eimeria* han sido identificadas como parásitos de las especies domésticas (llama y alpaca) y silvestres (vicuña y guanaco) de camélidos sudamericanos (CS): *E. lamae*, *E. alpaca*, *E. punoensis*, *E. macusaniensis* y *E. ivitaensis*. Todas ellas fueron encontradas en llamas de la Argentina, mientras que *E. macusaniensis* se halló también en guanacos y vicuñas de nuestro país. Las especies de *Eimeria* de los CS poseen características tan definidas que permiten distinguirlas sin necesidad de incubación de sus ooquistes (Figs. 1 y 2). El presente estudio informa la prevalencia y abundancia de *Eimeria* spp. en vicuñas cautivas mantenidas en la región del altiplano del Noroeste argentino (NOA).

Materiales y Métodos

Se estudiaron vicuñas mantenidas en la Estación Experimental de Abra Pampa del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, provincia de Jujuy, Argentina (22°49' S, 65°47' W; 3.484 m.s.n.m.). Siguiendo protocolos de Bienestar animal, en mayo y noviembre de 2011 se capturaron 154 vicuñas adultas y 81 juveniles (< 1 año), de las cuales se tomaron muestras de heces del recto, que se almacenaron a 4 °C hasta su procesamiento en el laboratorio. Las muestras se procesaron por dos técnicas: A) McMaster modificada para diagnóstico de *E. punoensis*, *E. alpaca* y *E. lamae*, y B) técnica de sedimentación-flotación descrita por Cafrune *et al.* (2009) para detección de *E. macusaniensis* y *E. ivitaensis*. Los ooquistes de cada especie de *Eimeria* se contaron para determinar su número por gramo de heces (OPG). Para cada fecha se definió la prevalencia de cada especie de *Eimeria* por el número de vicuñas infectadas respecto del total y la abundancia media de la infección por la cantidad de OPG de cada especie de *Eimeria* sobre el total de vicuñas muestreadas. Ambos

parámetros se calcularon para los ejemplares adultos y los juveniles.

Resultados

Las cinco especies de coccidios propias de CS fueron encontradas en la población de vicuñas. La prevalencia y abundancia media de cada especie de *Eimeria* se presentan, respectivamente, en las Tablas 1 y 2. Solo once adultos (cuatro en mayo y siete en noviembre) no eliminaron ooquistes de *Eimeria*. Los juveniles tuvieron la prevalencia más alta de todas las especies de coccidios (Tabla 1) y la mayor abundancia de casi todas las especies en ambas fechas, salvo para *E. ivitaensis* (Tabla 2). Ambos parámetros fueron marcadamente bajos para esta última especie. Las co-infecciones por varias especies de *Eimeria* fueron habituales. No se observaron signos clínicos de la infección en las vicuñas muestreadas.

Figura 1. Ooquistes (no esporulados) de *Eimeria punoensis* (a), *Eimeria alpaca* (b) y *Eimeria lamae* (c) (izq).

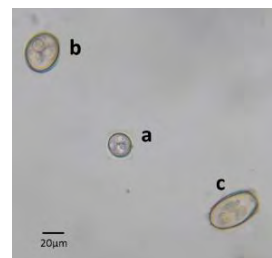


Figura 2. Ooquistes (no esporulados) de *Eimeria macusaniensis* (d) y *Eimeria ivitaensis* (e) (derecha).



Tabla 1. Prevalencia (%) de cinco especies de *Eimeria* en heces de vicuñas cautivas adultas y juveniles del Altiplano argentino.

Fecha	Edad de vicuñas	<i>E. punoensis</i>	<i>E. alpaca</i>	<i>E. lamae</i>	<i>E. macusaniensis</i>	<i>E. ivitaensis</i>
Mayo 2011	Adultas (n = 71)	65* (91,5) ^a	59 (83,1) ^a	27 (38,0) ^a	7 (9,9) ^a	1 (1,4) ^a
	Juveniles (n = 37)	37 (100) ^a	33 (89,2) ^a	22 (59,5) ^a	37 (100) ^b	0 ^a
Nov. 2011	Adultas (n = 83)	73 (87,9) ^a	54 (65,1) ^a	15 (18,1) ^a	17 (20,5) ^a	1 (1,2) ^a
	Juveniles (n = 44)	44 (100) ^a	36 (81,8) ^a	17 (38,6) ^a	30 (68,2) ^b	1 (2,3) ^a

* Números que no comparten letras en cada fecha y columna son significativamente diferentes (P < 0.05, prueba Chi cuadrado)

Tabla 2. Abundancia media (OPG y desvío estándar) de cinco especies de *Eimeria* en heces de vicuñas cautivas adultas y juveniles del Altiplano argentino.

Fecha	Edad de vicuñas	<i>E. punoensis</i>	<i>E. alpaca</i>	<i>E. lamae</i>	<i>E. macusaniensis</i>	<i>E. ivitaensis</i>
Mayo 2011	Adultas (n = 71)	7552,1 ^a (±10.904,3)	950,4 ^a (±1.100,3)	240,5 ^a (±478,7)	0,85 ^a (±4,8)	0,06 ^a (±0,47)
	Juveniles (n = 37)	13.001,1 ^b (±11.318,8)	5.433,5 ^b (±8.712,9)	18.949,2 ^b (±58.462,2)	336,2 ^b (±515,9)	0 ^a
Nov. 2011	Adultas (n = 83)	6.703,1 ^a (±10.473,8)	711,8 ^a (±1.552,4)	91,1 ^a (±315,7)	9,8 ^a (±53,6)	0,02 ^a (±0,15)
	Juveniles (n = 44)	25.925,4 ^b (±66.930,2)	1.419,1 ^b (±2.601,1)	470,9 ^b (±1.588,3)	23,0 ^b (±70,7)	0,02 ^a (±0,15)

* Números que no comparten letras en cada fecha y columna son significativamente diferentes (P < 0.05, test de Kruskal-Wallis)

Discusión

Los resultados coincidieron parcialmente con los de Beltrán Saavedra *et al.* (2011) en vicuñas silvestres (n = 32) de Apolobamba (Bolivia). Estos autores reportaron sólo cuatro especies de *Eimeria* (*E. punoensis*, *E. alpaca*, *E. lamae* y *E. macusaniensis*) con una prevalencia total de 84,4%, 90,6%, 18,7% y 9,4%, respectivamente. La prevalencia de todas las especies de coccidios también fue mayor en vicuñas jóvenes que en adultos. En contraste, Bouts, *et al.* (2003) sólo hallaron *E. punoensis* con prevalencia del 41% en vicuñas silvestres (n = 39) de Pampa Galeras (Perú). La prevalencia de *E. macusaniensis* en vicuñas adultas (Tabla 1) no difirió a su vez de resultados previos (9,2% y 22,2%) en dos poblaciones del NOA (Cafrune *et al.*, 2009). Por otra parte, distintos autores han informado prevalencias disímiles de *Eimeria* spp. en CS domésticos.

La mayor prevalencia y abundancia de *Eimeria* spp. registrada en vicuñas jóvenes coincidió con el patrón epidemiológico típico de las infecciones por coccidios registrado en otras especies animales.

La infección concurrente de las cinco especies de *Eimeria* de CS se informó previamente en llamas de Jujuy, Argentina. Sin embargo, *E. macusaniensis* fue diagnosticada primero en guanacos de Chubut, Mendoza y San Juan. Más tarde se encontró esta última especie en llamas de Catamarca y Salta, guanacos de Salta, y en vicuñas de Jujuy y Salta. En cambio, *E. ivitaensis* se detectó en apenas cuatro llamas pero no en vicuñas o guanacos (Cafrune *et al.*, 2009); así, el presente informe parece ser el primero en vicuñas. Es claro que se necesitan estudios adicionales para entender mejor la distribución y epidemiología de *E. ivitaensis*.

Evidencia surgida de infecciones naturales indica que *E. macusaniensis* sola -o asociada con *E. lamae* o *E. ivitaensis* - es la especie más patógena de coccidios, sobre todo en CS jóvenes.

No obstante, varios informes de los últimos años prueban que también los CS adultos pueden ser clínicamente afectados por *E. macusaniensis*. Además, se ha sugerido que los daños de la mucosa intestinal causados por *E. macusaniensis* pueden inducir un crecimiento excesivo de *Clostridium perfringens* con producción de toxinas que conduzcan a una enterotoxemia fatal en CS.

Bibliografía

- Bouts, T., Fox, M.T., Scheres, G., Chávez, A. 2003. Identification of gastrointestinal nematodes and coccidia in wild vicunas (*Lama vicugna*) in Pampa Galeras, Peru. *Erkrankungen der Zootiere: Verhandlungsbericht des 41 Internationalen Symposiums über die Erkrankungen der Zoo- und Wildtiere*, Rome, Italy, pp. 101-105.
- Palacios, C.A., Perales, R.A., Chavera, A.E., López, M.T., Braga, W.U., Moro, M. 2006. *Eimeria macusaniensis* and *Eimeria ivitaensis* co-infection in fatal cases of diarrhoea in young alpacas (*Lama pacos*) in Peru. *Vet. Rec.* 158, 344.
- Cafrune, M.M., Marín, R.E., Rigalt, F.A., Romero, S.R., Aguirre, D.H. 2009. Prevalence of *Eimeria macusaniensis* and *Eimeria ivitaensis* in South American camelids of Northwest Argentina. *Vet. Parasitol.* 162: 338-341.
- Rosadio, R., Londoño, P., Pérez, D., Castillo, H., Véliz, A., Llanco, L., Yaya, K., Maturrano, L. 2010. *Eimeria macusaniensis* associated lesions in neonate alpacas dying from enterotoxemia. *Vet. Parasitol.* 168, 116-120.
- Beltrán-Saavedra, L.F., Nallar-Gutiérrez, R., Ayala, G., Limachi, J., González-Rojas, J.L. 2011. Health assessment of free-ranging vicuna of the National Integrated Management Natural Area Apolobamba, Bolivia. *Ecología en Bolivia* 46, 14-27.

DESCRIPCIÓN CLÍNICO-PATOLÓGICA DE BROTES DE SARNA SARCÓPTICA EN VICUÑAS (*Vicugna vicugna*) Y LLAMAS (*Lama glama*) DE JUJUY, ARGENTINA

Aráoz, V.^{1,2}, Aguirre, D.H.¹, Viñabal, A.E.¹, Acuña, F.³, Abalos, M.³, *Micheloud, J.F.^{1,2}
¹INTA – IIACS Leales/ EEA Salta ²FCAYV, Univ. Católica de Salta ³INTA-EEA Abra Pampa, Jujuy

Introducción

La sarna sarcóptica es una parasitosis contagiosa de distribución mundial, producida por *Sarcoptes scabiei*, que afecta a numerosas especies de mamíferos y al hombre. Se considera una de las afecciones cutáneas de mayor prevalencia y severidad en los camélidos sudamericanos (CS). La epidemiología y manifestación clínico-patológica de la enfermedad presenta diferencias notorias según la región geográfica y las especies involucradas. Se describen dos tipos principales de cuadros clínicos, la "forma paraqueratótica" y la "forma alopecica" en las que predominan, respectivamente, las reacciones de hipersensibilidad de tipo I (inmediata) y IV (retardada). Asumiendo que se trata de una problemática relevante en el Noroeste argentino y que en nuestro país los reportes de sarna en CS son escasos, este trabajo describe y compara el tipo de presentación clínica e histopatológica en vicuñas y llamas afectadas por sarna sarcóptica.

Materiales y Métodos

En septiembre de 2014 ocurrieron sendos brotes de sarna sarcóptica en una tropa de 120 vicuñas en cautividad de la localidad de Rodeo

y en una majada de 230 llamas de la localidad de Yavi, ambos en la provincia de Jujuy, Argentina. En ambos casos se realizaron raspados de piel que fueron preservados en etanol 70% y luego clarificados con hidróxido de potasio, para su observación con microscopio óptico. En forma simultánea se extrajeron biopsias de piel de la región perianal e ingle de dos vicuñas adultas y de dos llamas machos adultos jóvenes. Las muestras de tejido fueron fijadas en formol bufferado al 10% y procesadas por las técnicas histológicas de rutina.

Resultados

Los casos se confirmaron mediante identificación de *S. scabiei* en los raspados de piel. Ambas vicuñas mostraron abundante cantidad de ácaros, opuestamente a las llamas, de las que solo una exhibió escasos ejemplares de *S. scabiei*. En las vicuñas la sarna tuvo una incidencia del 9,16%, mortalidad del 5% y letalidad del 54,5%. En las llamas se vieron afectados únicamente los machos juveniles, con incidencia del 2,17% y mortalidad/ letalidad del 0%. Los hallazgos macroscópicos e histopatológicos se presentan en la Tabla 1 y en las Figuras 1 a 6.

Tabla 1. Hallazgos histopatológicos y parasitológicos en muestras cutáneas de vicuñas (n = 2) y llamas (n = 2).

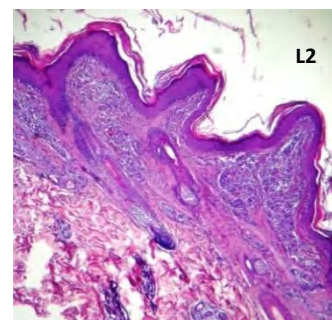
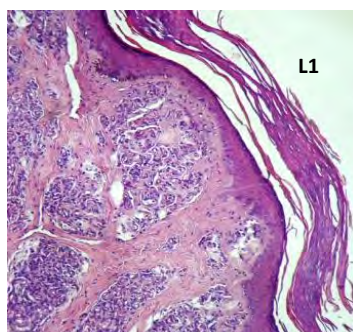
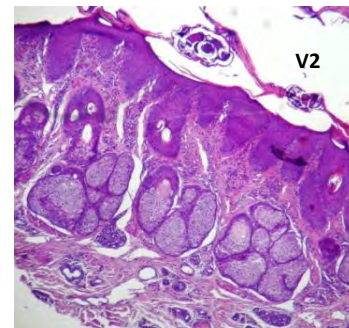
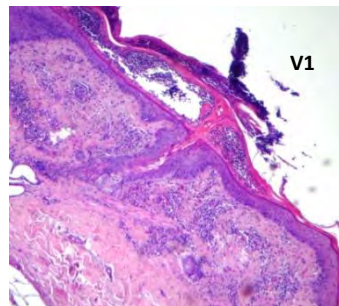
Lesiones/ Ejemplares	Especie de CS	Vicuña		Llama	
		V1	V2	L1	L2
Hiperplasia de epidermis		++	+++	+++	++
Hiperplasia de glándulas sebáceas		+	++	-	-
Infiltrado inflamatorio/ tipo		Neutrófilos y eosinófilos	Macrófagos, linfocitos, cel. plasmáticas y eosinófilos	-	Monocitos y linfocitos
Degeneración de epidermis		+	+	+	++
Ácaros en raspado de piel		Abundantes	Abundantes	No registrado	Escasos
Ácaros en cortes HP		Abundantes	Abundantes	No registrado	Escasos

Grado de severidad de las lesiones: (-) ausente; (+) leve; (++) moderado, (+++) severo

Figuras 1 a 6.

Vicuñas (V): Lesiones costrosas severas extensas, involucrando hasta el área de garrones. V1 y V2: Dermatitis paraqueratósica severa, con hiperplasia de glándulas sebáceas, ausencia de folículos pilosos y predominio de macrófagos, células plasmáticas, neutrófilos y eosinófilos. En V2 se pueden observar secciones de ácaros.

Llamas (L): Hiperqueratosis moderada en zona perianal. L1 y L2: Hiperplasia moderada y cambios degenerativos de la epidermis, con predominio de linfocitos y monocitos.

**Discusión**

Acorde con informes previos en otras especies de ungulados, los hallazgos clínico-patológicos en las vicuñas sugieren la presentación de sarna "tipo paraqueratósica", con abundancia de ácaros asociada a la aparición de cuadros clínicos graves con alta letalidad. En las llamas, por el contrario, la sarna tuvo una presentación de "tipo alopecica", con escasa presencia de ácaros y cuadros clínicos leves, hallazgos similares a los observados en cánidos silvestres. Para estos casos, la aplicación de técnicas ya descritas -como la inmunohistoquímica- en biopsias de piel podría constituir un excelente complemento diagnóstico cuando la presencia de ácaros es muy pobre. Se juzga necesario profundizar los estudios sobre la respuesta de los CS a la infestación por *S. scabiei*. El mejor

conocimiento de la parasitosis en estas especies permitirá implementar programas más eficientes para el control de la enfermedad.

Bibliografía

- Pence, D.B. and Ueckermann, E. 2002. Sarcoptic mange in wildlife. Rev. Sci. Tech. OIE 21: 385-398.
- Lusat, J., Morgan, E.R. and Wall, R. 2009. Mange in alpacas, llamas and goats in the UK: Incidence and risk. 2009. Vet. Parasitol. 163: 179-184.
- Oreaga, A., Casais, R., Prieto, J.M., Gortázar, C. and Balseiro, A. 2012. Comparative pathological and immunohistochemical features of sarcoptic mange in five sympatric wildlife species in Northern Spain. Eur. J. Wildl. Res. 58: 997-1000.
- Gómez-Puerta, L.A., Olazábal, J., Taylor, C.E., Cribillero, N.G., López-Urbina, M.T. and González, A.E. 2013. Sarcoptic mange in vicuña (*Vicugna vicugna*) population in Peru. Vet. Rec.173: 269.

PROCESAMIENTO DE MUESTRA DE SANGRE DE LLAMA: PURIFICACIÓN DE GLÓBULOS BLANCOS

Odeon, M.M.^{1,2}, Romero, S.³, Romera, S.A.^{1,2,4,5}

¹CONICET; ²CICVyA-INTA Castelar; ³INTA IPAF NOA Jujuy; ⁴Univ. del Salvador; ⁵Univ. de Morón

Introducción

El aumento de la producción de fibras y demás productos de los camélidos sudamericanos debe ser parte de una estrategia global de inversión sostenida en investigación y desarrollo apropiados. Entre los productos que se comercializan se encuentra la carne, cueros, lana, fibras y artesanías. Todos a través de vías informales de comercialización (mercados de trueques y/o canjes por alimentos no perecederos) de manera individual y a bajos precios (Quispe, 2009). A partir de la década del '60 ha habido un crecimiento del rodeo de llamas estimulado por factores tales como el involucramiento de las autoridades de las provincias del NOA y de organismos federales e internacionales, que ya consideran la producción de camélidos como un factor de desarrollo regional, pero también por un incremento de las posibilidades de comercialización de fibra y carne que comienza a insinuarse. La cantidad total de ganado camélido en la Argentina es mayor de 160.000 animales, distribuidos principalmente en el altiplano de Jujuy (100.000), y el resto en Catamarca y Salta (Aba, 2005.).

Estas especies poseen ventajas comparativas, se desarrollan en áreas agro- ecológicas donde no se adaptan otras especies; su crianza constituye una actividad socioeconómica importante para el poblador alto andino (García Fernández, 1992).

En la provincia de Jujuy, la mayoría del ganado camélido se encuentra en manos de comunidades campesinas de pequeños productores familiares cuya actividad principal es la ganadería de altura. Las condiciones de manejo son precarias, de manejo tradicional, carente de tecnología y en la mayoría de los casos la mano de obra es familiar. Se suman a los factores limitantes de la producción las respuestas de estrés y las enfermedades.

Por las razones anteriormente mencionadas es importante que el productor adquiera pautas que posicionen a este producto no solo desde el valor nutricional sino desde el valor ético. En el área de bienestar animal se abordan estudios relacionados a evaluar el impacto de diferentes situaciones de manejo como la esquila, prácticas sanitarias, y la adecuación de las instalaciones a estas especies. Los efectos del manejo de los animales sobre el bienestar animal se pueden medir a través de indicadores fisiológicos y de comportamiento. Con el objetivo de evaluar parámetros bioquímicos y celulares como indicadores de

bienestar animal en distintos sistemas de producción de llamas, nos propusimos poner a punto un método eficiente de obtención de muestra para dicha evaluación, purificación de glóbulos blancos y su posterior criopreservación. Como producto de estos estudios se pretende generar recomendaciones de manejo bajo las condiciones particulares de los sistemas rurales locales y de las especies animales, ya que hasta el momento no existen muchos antecedentes al respecto.

Materiales y Métodos

La muestra de sangre de llamas fue tomada de la vena yugular externa con citrato 3.8% (1:10) como anticoagulante.

Luego se procesaron con cuatro protocolos distintos para la futura evaluación de obtención de glóbulos blancos con cada uno de ellos, con el objetivo de maximizar el número de células obtenidas, evitando la contaminación de glóbulos rojos. Se partió de 500 μ l de sangre en cada protocolo, se realizaron por duplicado.

La diferencia entre protocolos consiste principalmente en el método de lisis de glóbulos rojos, ya que al tratarse de camélidos es una de las principales variables a ajustar. Difieren del resto de los mamíferos en que sus glóbulos rojos son elípticos y con mayor afinidad por el oxígeno.

Protocolo general:

- 1-Centrifugar 1000 g 30 min, separar plasma.
- 2-LISIS 1.
- 3-Centrifugar 1200g 5 min.
- 4-LISIS 2.
- 5- Centrifugar 1200g 5 min.
- 6-Lavar con RPMI.
- 7-Centrifugar 1200g 5 min.
- 8- Resuspender células en RPMI-10%SFB.

LISIS Protocolo 1: H₂O destilada 1:1, 4°C

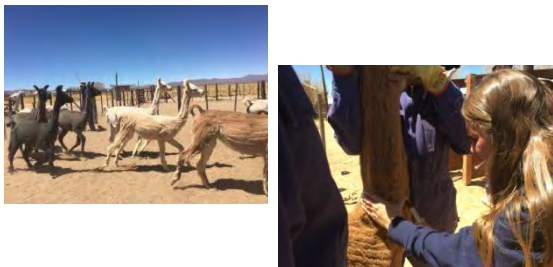
LISIS Protocolo 2: 5,4 g sacarosa 300 mM en Tris-HCl (pH 7,5) + 0,5 mL Tritón X // 1:1, 5 min, 4°C

LISIS Protocolo 3: NH₄Cl 155 mM; Bicarbonato de potasio 10 mM; EDTA disódico 0.1 mM // 1:1, 15 min, 4°C

LISIS Protocolo 4: NH₄Cl 155 mM; Bicarbonato de potasio 10 mM; EDTA disódico 0.1 mM // 1:1, 15 min, 37°C

Para analizar la eficiencia de cada protocolo se realizó un conteo de células con azul de Tripán en cámara de Neubauer. Para evaluar pureza de las muestras obtenidas se realizó un extendido de las células, se tiñieron con Giemsa y se observaron al microscopio óptico.

Muestreo en EEA Abrapampa, Jujuy



Resultados

Protocolo 1:

Células obtenidas: 28×10^6 Cél./ml

Contaminación de eritrocitos: Muy Alta

Protocolo 2:

Células obtenidas: 12×10^6 Cél./ml

Contaminación de eritrocitos: Baja

Protocolo 3:

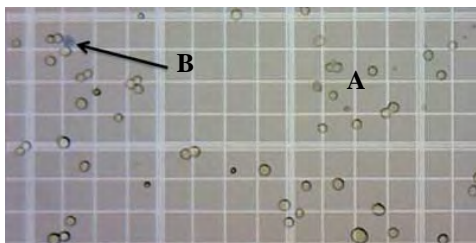
Células obtenidas: 92×10^6 Cél./ml

Contaminación de eritrocitos: Alta

Protocolo 4:

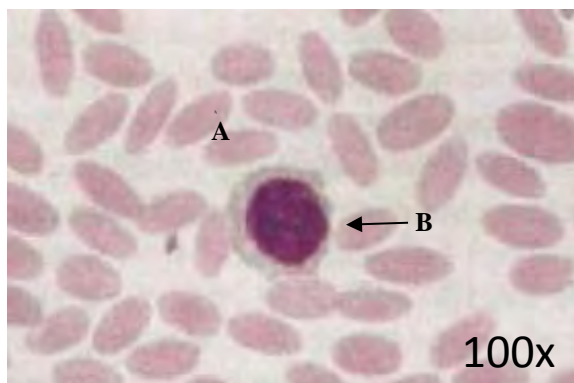
Células obtenidas: 103×10^6 Cél./ml

Contaminación de eritrocitos: Baja



Cámara de Neubauer: Se pueden observar las células vivas (A), brillantes y las células muertas (B), que incorporaron el colorante.

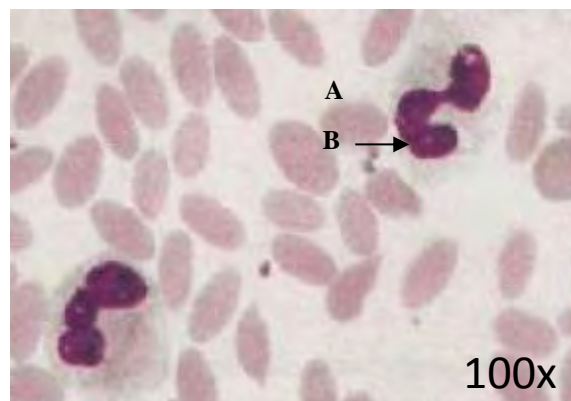
Frotis:



Frotis sanguíneo llama, aumento 100X

A- Glóbulos rojos

B- Linfocito



Frotis sanguíneo llama, aumento 100X

A- Glóbulos rojos

B- Neutrófilo

Discusión

Luego de analizar el número de células obtenidas y la contaminación de glóbulos rojos presentes se concluye que el protocolo número 4 es el adecuado para la obtención de plasma y la purificación de glóbulos blancos de llama. Únicamente con el protocolo 4 se logró una muestra final con un buen rendimiento en la obtención de linfocitos y neutrófilos sin contaminación con glóbulos rojos. La lisis en los protocolos 1 y 3 fue muy baja, mientras que en el protocolo 2 sí se observó lisis de eritrocitos pero también de glóbulos blancos. La mejor combinación fue en el protocolo 4, donde se utilizó un buffer con mayor poder lisante que el 1 pero menor que el 2, a una temperatura que optimice su acción.

Bibliografía

- Aba, M. A.; Quiroga, M.A. y Lamas, H.E. 2005. Manejo sanitario de los Camélidos de la puna jujeña: situación actual y cambios técnicos a implementar. Gob. de Jujuy-Consejo Federal de Inversiones.
- Quispe EC, Rodríguez TC, Iñiguez LR y Mueller JP, 2009. Producción de fibra de alpaca, llama, vicuña y guanaco en Sudamérica. Animal Genetic Resources Information.
- García Fernandez, J.J., Tecchi, R. y M. Rabey, 1992. La ganadería de camélidos en el altiplano de Jujuy. Ecosistemas Altoandinos de Argentina y Chile. Memorias.

DESARROLLANDO VACUNAS PARA EL CONTROL DE PARASITOS PROTOZOOS EN RUMIANTES

Innes, E.¹; Bartley, P.¹; Rocchi, M.¹; Benavides, J.¹; Burrells, A.¹; Hotchkiss, E.¹; Chianini, F.¹; Cantón, G.²; Katzer, F.¹

¹Moredun Research Institute, Escocia; ²INTA EEA Balcarce

Los parásitos protozoos se encuentran entre los organismos más exitosos en el mundo, siendo capaces de vivir y multiplicarse dentro de una gran variedad de especies hospedadoras. Las enfermedades que provocan causan pérdidas productivas significativas en el sector ganadero ya sea provocando pérdidas reproductivas, afectando la ganancia de peso, contaminando alimentos, reduciendo la producción de leche y, en casos severos, provocando la muerte de animales.

Además, algunos de estos protozoos que afectan al ganado, como *Toxoplasma gondii* y *Cryptosporidium parvum* pueden también transmitirse al humano, desarrollando enfermedad.

Foto 1. Quiste tisular de *T. gondii* en el cerebro de un cordero desafiado (inmunohistoquímica).

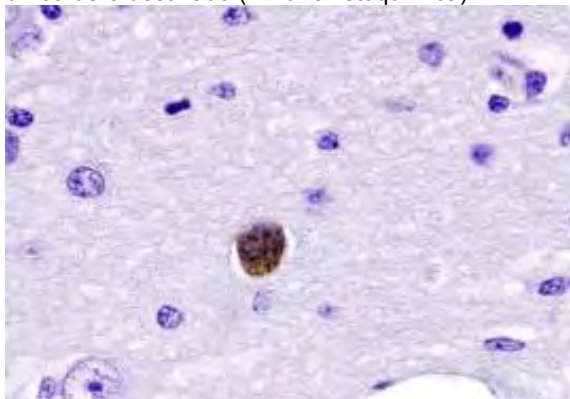
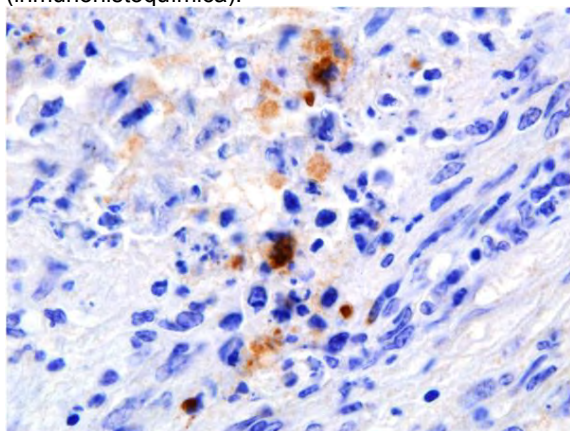


Foto 2. Taquizoitos de *Neospora caninum* en la placenta de una vaca experimentalmente infectada (inmunohistoquímica).



La información que surge de modelos experimentales de infección en especies rumiantes permite el estudio de interacciones entre el parásito y el hospedador. Como el parásito inicia la infección, se establece y multiplica dentro del hospedador y las vías patológicas críticas que llevan al desarrollo de la enfermedad, son todas importantes para permitir un diseño racional y una estrategia de intervención apropiada.

Una vez que el parásito invade el hospedador, se induce una respuesta inmune tanto innata como adaptativa y la inducción y función de esta respuesta inmune son críticos en determinar el resultado de una infección.

Las vacunas ofrecen soluciones al control de la enfermedad, y son una solución "verde", ya que son sustentables y reducen la utilización de drogas y pesticidas. El uso de vacunas tiene múltiples beneficios como: mejorar la salud y el bienestar animal al controlar infecciones e infestaciones; mejorar la salud pública al controlar enfermedades zoonóticas y enfermedades transmitidas por alimentos; resolver problemas asociados a la resistencia de acaricidas, antibióticos y antihelmínticos; mantener a los animales y al ambiente libre de residuos químicos y preservar la biodiversidad. Todos estos atributos deberían mejorar la sostenibilidad de los sistemas de producción animal y un beneficio económico.

Usando diferentes ejemplos de enfermedades provocadas por protozoos, en este trabajo se discutió varios acercamientos usados en el desarrollo de vacunas para proteger a los animales de producción y discutir los beneficios y desventajas de vacunas vivas versus vacunas muertas, entre otros aspectos.

Se discutieron una gran variedad de vacunas y estrategias para proteger contra: enfermedad aguda; infección congénita y aborto, persistencia de patógenos zoonóticas en tejidos y comida de origen animal y la transferencia pasiva de inmunidad en los neonatos.

***ENFERMEDADES TÓXICAS
Y METÁBOLICAS***

TABLA DE CONTENIDOS

Enfermedades de acúmulo lisosomal en pequeños rumiantes en el noroeste Argentino.....	203
Potencial toxigénico de <i>Astragalus pehuenches</i> de Río Negro, Argentina.....	205
Intoxicación experimental por <i>Astragalus pehuenches</i> : caracterización histopatológica en ovinos.....	207
Métodos para el diagnóstico <i>in vivo</i> de ovinos intoxicados por <i>Astragalus pehuenches</i>	209
Intoxicación por <i>Heterophyllaea pustulata</i> en el noroeste argentino.....	211
Avances sobre el estudio de la mascadera caprina.....	213
Aspectos de la dieta en caprinos afectados por “mascadera” en la provincia del Neuquén, Argentina.....	215
“Mascadera” en cabras de La Rioja: Estudio retrospectivo de valores hemáticos y séricos.....	217
Presunción diagnóstica de intoxicación por <i>Colliguaja integerrima</i> en mortandad de corderos alimentados a corral.....	219
Intoxicación por <i>Baccharis coridifolia</i> DC (“Romerillo”) en corderos de la provincia de Buenos Aires.....	221
Intoxicación experimental con <i>Asclepias mellodora</i> (“yerba de la víbora”) en ovinos.....	223
Intoxicación experimental con <i>Galega officinalis</i> en ovinos.....	225
Calcinosis enzoótica en caprinos de Argentina por presunta intoxicación con <i>Solanum stuckertii</i> bitter.....	227
Intoxicación crónica primaria por cobre en un carnero Merino en la provincia de Santa Cruz, Argentina...	229
Intoxicación crónica con cobre: presentación de un caso en un carnero.....	231
Quistes mandibulares odontogénicos en ovinos Merino de la Patagonia Argentina.....	233
Quistes epidurales en un carnero Merino.....	235
Desgaste dentario en ovinos Merino de la Patagonia argentina, tras la erupción del volcán Puyehue.....	237
Reporte de un caso de distocias en ovinos asociada a hipomagnesemia en la provincia de Buenos Aires.....	239
Reproducción experimental de Diplodiosis en ovinos.....	241

ENFERMEDADES DE ACUMULO LISOSOMAL EN PEQUEÑOS RUMIANTES EN EL NOROESTE ARGENTINO

Micheloud, J.F.¹ y Gimeno, E.J.²

¹Área de Sanidad Animal-IIACs Leales/INTA-Salta; ²CONICET/ Facultad de Ciencias Veterinarias UNLP

Introducción

Las enfermedades de acúmulo lisosomal (EAL) son un grupo de trastornos caracterizados por acúmulo intra-lisosomal de glicoproteínas. Dentro de estas enfermedades, las alfa-manosidosis constituyen las más comunes y de mayor importancia económica en los animales domésticos. Si bien existen formas congénitas de la enfermedad, las formas adquiridas (debido al consumo de plantas tóxicas) es la forma más comunmente observada en pequeños rumiantes. En la literatura se citan, desde hace años, una gran cantidad plantas de los géneros *Swainsona* (en Australia) y *Oxitropis* y *Astragalus* (en América del Norte). Posteriormente, se incrementó la lista de especies capaces de desencadenar este tipo de afecciones incorporándose: *Ipomoea fistulosa*, *I. asarifolia*, *I. hieronymi* var. *calchaquina*, *I. sericophylla* e *I. riedelii*; *Turbina cordata* y *Sida carpinifolia*. En Argentina la información es bastante reciente y las especies descritas son: *Astragalus pehuenches* en la región patagónica e *Ipomoea fistulosa* en el Noreste del país. En el Noroeste Argentino la información es limitada y en el marco de este proyecto se avanzó sobre otras especies de importancia regional como como: *Astragalus garbancillo* en la puna del noroeste Argentino, *Ipomoea hieronymi* var. *calchaquina* en el valle templado de Salta. Y *Sida rodrigo monteiro* para la región subtropical del NOA.

Aspectos toxicológicos

El principal tóxico presente en estas especies es la swansonina, alcaloide capaz de inhibir la α -manosidasa lisosomal y la α -manosidasa II en el aparato de Golgi induciendo el acúmulo de glicoproteínas en estas organelas. Estudios recientes indican que es producida por hongos endofíticos que infectan a las plantas. Los estudios llevados a cabo sobre las especies mencionadas permitieron identificar este alcaloide en las 3 plantas. Los niveles de toxina fueron similares entre ellas (0,3 % MS aprox.), pero debe considerarse que niveles de swansonina superiores a 0.001% se consideran perjudiciales para el ganado.

Aspectos clínico-patológicos

Aunque una gran cantidad de tejidos se ven afectados, los signos de estas enfermedades son predominantemente nerviosos. Los primeros signos comienzan por un estado embriaguez o borrachera que es bien evidente en caprinos. Se observa desequilibrio del tren

posterior, hipermetría e inestabilidad. Si no se interrumpe el consumo los animales progresan al decúbito. Un signo característico de todos estos cuadros es que en los animales afectados a elevar la cabeza los signos se incrementan y caen al suelo con intensos temores. En ovinos los cuadros pueden ser más sutiles evolucionando hacia la cronicidad donde se observa pérdida de peso y caquexia. Los animales afectados no presentan lesiones macroscópicas. La histopatología revela vacuolización de varios tejidos fundamentalmente el sistema nervioso central, especialmente en cerebelo y núcleos basales. Otros tejidos afectados son el páncreas exocrino hígado, tiroides, riñones y con menor frecuencia miocardio y sistema reproductor. La confirmación de estos casos requiere el empleo de técnicas como la lectino-histoquímica para identificar el patrón de glicoproteínas acumulados.

A Cabra intoxicada por *S. rodrigo monteiro* con ataxia del tren posterior. **B**: Oveja intoxicada por *A. garbancillo*. En posición de perro sentado. **C**: Neuronas con vacuolización citoplasmática. **D**: Inmunomarcacion positiva a la sWGA en las neuronas de la los núcleos basales de cerebro.



Astragalus garbancillo var. *garbancillo*

Esta especie se distribuye en la Fitoregión Andina de Prepuna, Puneña y Altoandina, desde Perú hasta Chile y en Argentina en Catamarca, Jujuy, La Rioja, Mendoza, Salta, San Juan, Tucumán. Los habitantes locales

indican que frecuentemente aparecen animales enfermos y asumen que se producen grandes pérdidas debido a su toxicidad. La enfermedad ha sido descrita en ovinos y llamas. Un brote en ovinos ocurrió en una comunidad de productores localizada en el paraje Pampa Llana en la puna salteña. La incidencia anual estimada para la enfermedad fue del 0,5 a 2 %. El brote en llamas ocurrió en la localidad de puesto Seys en el departamento Susque en la provincia de Jujuy. La tropa estaba formada por unos 70 animales de diferente sexo y categorías, de los cuales 5 adultos presentaban ataxia moderada, hipermetría marcada, y dos de ellos con temblor de cabeza y orejas.

Sida rodrigo monteiro

La información sobre esta especie es mucho menor ya que su toxicidad fue recientemente descrita. Habita la región subtropical del noroeste argentino, y tiende a diseminarse en áreas sobrepastoreadas. El brote descrito ocurrió en la localidad de El Palmar en la provincia de Jujuy. La incidencia fue muy alta 81% (160/196) y la mortalidad del 51% (100/196). Según los datos recabados durante el brote los animales llevaban unos 60 días consumiendo la planta. *S. rodrigo monteiro* es la segunda del Género reportada como inductora EAL.

Ipomoea hieronymi var. calchaquina

La toxicidad de esta especie fue descrita por primera vez por Rodríguez *et al* en 2004. El brote ocurrió en cabras en la provincia de Catamarca próximo a la localidad de Belén. Según se menciona en ese trabajo el consumo se debió a la baja oferta forrajera. Este es el único reporte de toxicidad de esta especie, sin embargo es probable que muchos de esos brotes ocurran y no sean denunciados.

A- *Ipomoea hieronymi var. Calchaquina*, **B-** *Astragalus garbancillo var. Garbancillo*, **C-** *Sida rodrigo monteiro*



Conclusión

Las plantas tóxicas son una seria limitante para la ganadería extensiva. Una gran proporción de los sistemas productivos en pequeños ruminantes son extensivos y están marginados a suelos pobres y semiáridos. En estas condiciones, las intoxicaciones por plantas pueden cobrar aún mayor relevancia. La toxicidad de los vegetales depende de muchas variables relacionadas con la planta, con la especie animal intoxicada y con factores de manejo asociadas. Las plantas inductoras de EAL son un grupo grande de especies. Los brotes ocurren cuando hay periodos de hambruna que llevan a los animales a consumirlas por un tiempo prolongado. En condiciones naturales con oferta suficiente de alimento, los animales no ingieren estos vegetales. En el NOA, hasta el momento, se han identificado tres especies, pero como se mostró en este resumen la información es limitada. Profundizar sobre este tipo de problemas es de gran relevancia ya que por tratarse de problemas regionales su estudio está limitado a dichas áreas. Actualmente seguimos trabajando al respecto sobre aspectos fitopatológicos de estas tres especies con el objeto de poder identificar la presencia de hongos simbioses productores de Swainsonina. Además de proponer medidas de control tendientes a mitigar su incidencia en las majadas de la región.

Bibliografía

- Chenchen W, Wenlong W, Xiaoxue L, Feng M, Dandan C, Xiaowen Y, Shanshan W, Pengshuai G, Hao L, Baoyu Z. 2014. Pathogenesis and preventive treatment for animal disease due to locoweed poisoning. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 37:336-347.
- Micheloud, JF; Marin, R; Martínez A; Martínez OG; Gardner, DR; Gimeno, EJ. 2017. Poisoning by *Astragalus garbancillo var. garbancillo* in sheep in Northwestern Argentina. *International Poisonous Plants Research*. Agosto.
- Micheloud JF, Marin R., Colque-Caro LA., Martínez OG, Gardner D, Gimeno EJ. 2017. Swainsonine-induced lysosomal storage disease in goats caused by the ingestion of *Sida rodrigo Montei* in Northwestern Argentina. *Toxicon*. 128: 1-4.
- Robles CA, Saber C y Jeffrey M. 2000. Intoxicación por *Astragalus pehuences* (locoismo) en ovinos Merino de la Patagonia Argentina. *Revista de Medicina Veterinaria* 81, 380-384.
- Rodríguez, R.A., Repetto, A.E., Ortega, H.H., Peralta, C.J., Pensiero J.F., Ref P.K., Salvetti NR., 2004. Intoxicación en cabras por ingestión de *Ipomoea hieronymi var. calchaquina* en la Provincia de Catamarca, Argentina. *Vet Arg*, 21, 332-341.

POTENCIAL TOXIGÉNICO DE *Astragalus pehuenches* DE RÍO NEGRO, ARGENTINA

Martinez, A.¹; Gardner, D.²; Cook, D.²; Gimeno, E.³; Robles, C.¹

¹Grupo de Salud Animal INTA Bariloche; ²USDA/ARS Poisonous Plant Research Lab ³FCV UNLP

Introducción

Astragalus pehuenches, conocido como "Garbancillo" o "Yerba Loca" está presente desde el sur de Mendoza hasta el norte de Chubut, pasando por el norte de Neuquén y el centro de Río Negro. Productores ganaderos de estas provincias conocen la planta y muchos manifiestan tener problemas de intoxicación en su ganado. El primer brote en Argentina fue reportado por Robles y col. en el año 2000 en una majada ovina en la cual se vieron afectados el 73% de los animales. Recientemente, Martinez y col (2016) reportaron un brote en bovinos donde afectó el 90% del rodeo. Ambos brotes ocurrieron en campos cercanos a la localidad de Maquinchao, Río Negro. El principio tóxico es un alcaloide denominado swainsonina (SW) y fue detectado en muestras de herbario en el año 1990. A pesar de ello, hasta este estudio se desconocía el potencial toxigénico de las poblaciones y si existe variabilidad del mismo entre diferentes zonas. El objetivo del presente trabajo fue determinar el potencial y variabilidad toxigénico en poblaciones de *Astragalus pehuenches* de la región Sur de la provincia de Río Negro.

Materiales y Métodos

Durante el mes de enero de 2012 y 2013 se realizaron colectas masivas de *Astragalus pehuenches* para caracterizar la distribución de la especie y determinar su potencial toxigénico. Para ello se visitaron establecimientos ganaderos donde había registros de presencia de la planta. En cada establecimiento, se recabó información al productor sobre el historial de casos de intoxicación. Finalmente, se realizaron las colectas de ejemplares mediante un corte con tijera sobre la corona a 1 cm del suelo. El material verde colectado se pesó y se procesó separando manualmente los tallos (T) de las hojas, flores, frutos y semillas (HFFS).

Para el análisis toxicológico se analizaron muestras según (1) partes de la planta (T y HFFS), (2) zona de cosecha (Los Menucos, Maquinchao e Ing. Jacobacci) y (3) años de estudio (2012 y 2013). Además, se conformaron dos mezclas de muestras, uno para 2012 y otro para 2013, compuestos cada uno por una mezcla proporcional de las plantas cosechadas en las tres zonas.

Para determinar si existía variabilidad toxigénica entre las tres zonas de la región se

llevó a cabo un muestreo sistemático de ejemplares individuales. Para ello en cada zona de cosecha se colectaron entre siete y ocho especímenes de *Astragalus pehuenches* los cuales fueron procesados y analizados en forma individual. Cada espécimen se mantuvo entero asegurándose la trazabilidad del mismo. En todos los muestreos, el material fue secado en estufa a 58° C y triturado mediante el uso de un molino. El polvo obtenido se guardó en envases herméticos, al resguardo de la luz solar y humedad hasta el momento de las determinaciones de swainsonina. Las muestras fueron analizadas para la detección y cuantificación de SW. La extracción de los alcaloides se realizó con una mezcla de cloroformo y ácido acético. La fracción de ácido acético se pasó por resinas de intercambio iónico para retener la swainsonina, la cual se eluyó con solución de hidróxido de amonio y se cuantificó por cromatografía líquida mediante espectrometría de masa (LC-MS) (Gardner *et al* 2001). Los valores de SW se expresaron en porcentaje de SW por peso de materia seca de planta.

Resultados

-Potencial toxigénico de *Astragalus pehuenches*

Las concentraciones de swainsonina en las mezclas compuestas por el material cosechado en forma masiva fue de 0.070 % en el año 2012 y de 0.097 % en el año 2013. En la Tabla 1 se pueden observar los detalles de cosechas y los valores de swainsonina para los dos años.

Tabla 1. Potencial toxigénico de *Astragalus pehuenches* de poblaciones de Río Negro.

Zona	Coordenadas	Parte planta	Swainsonina % MS	
			2012	2013
Los Menucos	40°33'18.6S 68°36'08.9O 1197 msnm	H-F-F-S	0.120	0.102
		Tallos	0.070	0.055
Maquinchao	41°29'55.5S 68°34'38.6O 979 msnm	H-F-F-S	0.080	0.122
		Tallos	0.040	0.066
Ing. Jacobacci	41°58'24.3S 69°38'42.3O 1069 msnm	H-F-F-S	0.060	0.149
		Tallos	0.040	0.074

-Variabilidad toxigénica de *Astragalus pehuenches*.

Los promedios zonales, el desvío estándar y el rango de la concentración de swainsonina en los especímenes cosechados en el muestreo sistemático se presentan en la Tabla 2. Las concentraciones de swainsonina no difirieron

significativamente según zona de cosecha ($p=0,277$).

Tabla 2. Variabilidad toxigénica de *Astragalus pehuenches* en tres zonas de Río Negro.

Zona	N° plantas	Swainsonina (Promedio %MS \pm DE)	Rango(% MS)
Los Menucos	7	0.128 \pm 0.016 ^a	0.065 - 0.204
Maquinchao	8	0.089 \pm 0.022 ^a	0.001 - 0.174
Ing. Jacobacci	8	0.114 \pm 0.011 ^a	0.070 - 0.153

Discusión

En el presente estudio se confirmó la presencia de *Astragalus pehuenches* en una superficie de 23.400 Km² en la región sur de la provincia de Río Negro.

El único reporte existente sobre la detección de SW en *A. pehuenches*, fue realizado sobre dos ejemplares herborizados y analizados mediante la técnica de cromatografía gaseosa (GC) donde se obtuvieron concentraciones de SW de 0.028 y 0.034 % MS, valores inferiores a los hallados en este trabajo. En el presente estudio se utilizó la cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masa (LC-MS), una técnica que posee mayor sensibilidad para determinar la concentración de SW comparada con técnicas como GC, cromatografía en placa delgada o por inhibición enzimática. Este trabajo es el primer estudio toxicológico en poblaciones de *A. pehuenches* realizado sobre especímenes de campo, donde utilizando LC-MS se establecieron valores entre 0.070 a 0.097 %, lo cual se ajustaría al verdadero potencial toxigénico de la especie en la región.

Las concentraciones de SW en las tres zonas y en los dos años de estudio fueron superiores entre 70 a 100 veces al umbral de toxicidad considerado en 0.001%. Este hecho pone en evidencia que las poblaciones de *A. pehuenches* del área bajo estudio poseen un alto potencial toxigénico y por ende constituyen un riesgo de intoxicación para el ganado que pastorea en dichas áreas. A pesar de esto, los productores con los que se trabajó en este estudio comentaron que tanto en el año 2012 como en el 2013 no registraron casos clínicos en su ganado, lo cual demuestra que además del alto potencial toxicológico de la planta tienen que ocurrir otros factores que favorezcan la aparición de brotes como podrían ser el sobre pastoreo de los campos, baja oferta forrajera en algún momento del año, aumento de la población anual de *Astragalus* en años lluviosos, etc. Estos factores favorecerían que los animales consuman plantas de *Astragalus* que, además de ser relativamente palatable, suelen rebrotar antes que el pastizal

acompañante, aumentando así su preferencia por parte del ganado.

En el presente trabajo no se hallaron diferencias de potencial toxigénico entre poblaciones de *A. pehuenches* en las tres zonas de cosecha. Posiblemente esto se deba a que, si bien estaban separadas por más de 50 km, las zonas abarcadas eran homogéneas tanto ambiental, como climática y geográficamente. Por otra parte, se comprobó que en forma similar a otras especies de *Astragalus*, la concentración de SW en *A. pehuenches* posee alta variabilidad inter espécimen siendo este un factor que podría influir en la determinación de diferencias del potencial toxigénico entre zonas.

Utilizando *Oxytropis sericea*, Stegelmeier *et al* (1999) sugirieron que los ovinos se intoxican con una dosis diaria de 0.2 mg SW/Kg por un periodo de 30 días. Si contemplamos las concentraciones de SW en *A. pehuenches* observadas en este estudio, podríamos decir que un ovino Merino a campo se intoxicaría si consume diariamente entre 90 y 150 gramos de planta por un periodo de 30 días.

Por muchos años se creyó que la SW era un metabolito secundario de la planta, sin embargo en el 2003 se descubrió que es producida por diferentes géneros de hongos endófitos que parasitan algunas especies de *Astragalus*. Se estima que la variabilidad de la concentración de SW está condicionada por factores ambientales, geográficos y de manejo del pastoreo, lo que concuerda con Rhoades (1979) quien sugiere que por ejemplo, en respuesta a la herbivoría las plantas a través de la simbiosis con hongos endófitos, sintetizan componentes tóxicos como los alcaloides, explicando la variabilidad hallada en el presente estudio.

Se propone a futuro aislar y tipificar los posibles hongos endófitos presentes en *A. pehuenches*, lo que permitirá realizar nuevos estudios direccionados a caracterizar la dinámica del potencial toxigénico y correlacionarlo con los principales factores que condicionan la variabilidad del potencial toxigénico de la planta en la región.

Bibliografía

- Gardner D.R., Molyneux R.J., Ralphs M.H. 2001. Analysis of swainsonine: extraction methods, detection, and measurement in populations of locoweeds (*Oxytropis spp.*). Journal of Agricultural and Food Chemistry. 49: 4573-4580.
- Rhoades, D.F. 1979. Evolution of plant chemical defense against herbivores. In: G.A. Rosenthal (Ed.) Herbivores: Their Interactions with Secondary Plant Metabolites pp: 3-54. Academic Press, New York.
- Robles C.A., Saber C., Jeffrey M. 2000. Intoxicación por *Astragalus pehuenches* (locoísmo) en ovinos Merino de la Patagonia Argentina. Revista de Medicina Veterinaria. 81: 380-384.

INTOXICACIÓN EXPERIMENTAL POR *Astragalus pehuenches*: CARACTERIZACIÓN HISTOPATOLÓGICA EN OVINOS

*Martínez, A.¹; Gimeno, E.²; Robles, C.¹
¹INTA Bariloche; ²FCV UNLP

Introducción

En el mundo, existen más de 2500 especies de *Astragalus* distribuidas en todos los continentes excepto Oceanía y Antártida. Toxicológicamente, el género *Astragalus* se puede dividir en tres grupos: las especies que acumulan selenio, las que poseen nitrocompuestos y las que poseen un alcaloide llamado swainsonina.

En Argentina, hay registradas 70 especies del género *Astragalus* y hasta el momento son tres las especies en que se han determinado concentraciones tóxicas de swainsonina: *Astragalus garbancillo* en el Noroeste Argentino, *Astragalus illini* y *Astragalus pehuenches* en la Patagonia Argentina. Si bien, desde principios del siglo pasado los pobladores rurales reconocen a estas especies como tóxicas, son escasos los diagnósticos confirmados de intoxicaciones espontáneas. En el año 2000 fue reportado el primer brote de intoxicación a campo en ovinos por *Astragalus pehuenches*. Luego, se diagnosticó la intoxicación por *Astragalus garbancillo* en ovinos de Salta.

Para confirmar el poder toxigénico de una especie vegetal, es condición *sine qua non* la reproducción experimental mediante la administración de la planta a animales (Tokarnia y col, 2012). En ese sentido, y debido a que no existen registros de ensayos de la intoxicación experimental por *Astragalus* hallados en Argentina, se plantea realizar el presente trabajo que tuvo como objeto reproducir experimentalmente la intoxicación por *Astragalus pehuenches* en ovinos y describir los hallazgos histopatológicos.

Materiales y Métodos

Se utilizaron 8 ovinos hembras raza Merino de 15 meses de edad con un peso promedio de 31,5 Kg. Los animales fueron provistos por un establecimiento cercano a la localidad de Pilcaniyeu, los cuales nunca tuvieron acceso al consumo de *Astragalus pehuenches*.

Diariamente se administró, según grupo asignado "*Locopellets*" al grupo tratado (GT, n=5) o alimento balanceado comercial al grupo control (GC, n=3). La cantidad de *Locopellets* administrado se calculó según peso del animal, contemplando alcanzar una dosis diaria de 2mgSW/Kg/PV.

En el día 54 los animales fueron eutanasiados y se realizó la necropsia evaluando

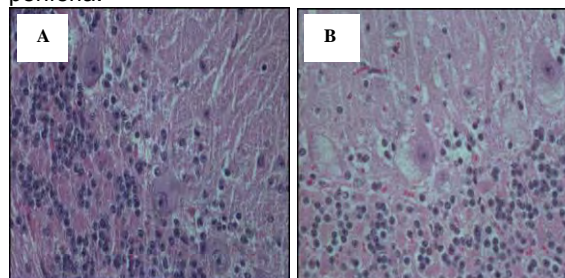
alteraciones macroscópicas. Se tomaron muestras de SNC, hígado, riñón y útero. Todas las muestras obtenidas se colocaron en formol bufferado al 10%, y fueron luego procesadas para tinción de HyE, Lectinohistoquímica y microscopía electrónica.

Resultados

Utilizando HyE, se observó que el grupo tratado tenía un grado variable de vacuolización, cromatólisis y desplazamiento del núcleo de las neuronas hacia la periferia clasificado como *degeneración celular* con compromiso de neuronas. Se observaron diferentes grados de severidad en la vacuolización: i) en las células de Purkinje la cromatólisis fue total, con vacuolas coalescentes que formaban un aspecto de "burbujas" generando una disrupción total del citoplasma, produciendo cambios evidentes en la arquitectura celular, y ii) en neuronas del núcleo reticular medular, la cromatólisis fue más severa observándose dilatación del cuerpo neuronal.

En cerebelo se observaron el árbol dendrítico y axones de las células de Purkinje aumentados de 2 a 3 veces en espesor, generando un cambio en la arquitectura de la capa molecular. Especialmente en el Núcleo *gracilis* se observaron abundante cantidad de esferoides axonales. En el útero del grupo tratado se observó vacuolización fina y generalizada en el epitelio endometrial y glandular (Foto 1).

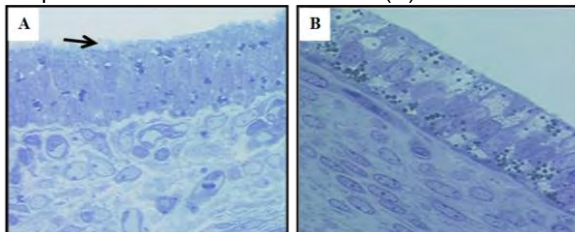
Foto 1. Células de Purkinje de un ovino del GC (A) y de un ovino del GT (B) con severa vacuolización en el citoplasma desplazando el núcleo hacia la periferia.



En cerebelo de los ovinos del grupo tratado, se observó leve marcación con las lectinas LCA y sWGA en células de Purkinje y fuerte marcación en las neuronas de los núcleos profundos. En médula oblonga las neuronas extrapiramidales del núcleo reticular medular fueron fuertemente marcadas en su citoplasma con las lectinas afines a α -manosa y N-acetilglucosamina (LCA y sWGA).

En ovinos del grupo tratado se observó un patrón de vacuolización principalmente en epitelio uterino. Sobre el borde apical del epitelio se apreció la ausencia de secreción; sin embargo los gránulos de secreción se mantuvieron en cantidad y tamaño (Foto 2).

Foto 2. Epitelio uterino de células cilíndricas con citoplasma homogéneo y secreción mucoides del GC (A). Epitelio uterino con numerosas vacuolas citoplasmáticas de un ovino del GT (B).



Ultraestructuralmente las vacuolas midieron entre 1-10 μ m constituidas por una membrana simple. La mayoría de las vacuolas contenían material granuloso electrodenso en su interior. En los ovinos del grupo control no presentaron alteraciones histológicas detectables.

Discusión

En el presente trabajo se logró reproducir experimentalmente la intoxicación por *Astragalus pehuenches* en ovinos con una dosis diaria de 2mgSW/KgPV durante un período de 54 días.

Numerosos trabajos realizados con otras especies de *locoweeds* han demostrado que la intoxicación genera emaciación y pérdida del estado y deterioro general en la apariencia del animal. Sin embargo, en este estudio no se registraron los signos clínicos anteriormente citados, lo que coincide con lo reportado por Robles y col (2000) quienes observaron abundante reservas grasas en ovinos afectados en casos de intoxicación natural por *Astragalus pehuenches*.

Microscópicamente, la vacuolización en sistema nervioso central y útero fue la lesión más significativa encontrada en los ovinos intoxicados. A nivel del sistema nervioso central esta lesión varió en tipo e intensidad según el tipo de neuronas evaluadas. Las células de Purkinje fueron la principal población neuronal afectada tanto por intensidad de la lesión y tipo de vacuolización.

Estos resultados podrían ser utilizados para la determinación de qué muestras son las más apropiadas para ser remitidas al laboratorio en caso de sospechar esta intoxicación. Por ejemplo, una muestra de cerebelo, otra de corteza frontal y de médula oblonga a la altura del óbex fijadas en formol, serían suficientes para confirmar un diagnóstico presuntivo de intoxicación por *Astragalus* u otro género de plantas que contiene swainsonina.

A nivel regional, la severa vacuolización en las células de Purkinje podría ser considerada de significancia diagnóstica ya que en la Patagonia, la ausencia de enfermedades exóticas productoras de vacuolización en neuronas como scrapie y encefalopatía espongiforme bovina (Schudel y col, 1997), y la ausencia de otros géneros de plantas que produzcan α -manosidosis nos permiten proponer a esta lesión como lesión patognomónica para la intoxicación por plantas del género *Astragalus spp.*

Las lesiones encontradas en el útero son consideradas un hallazgo novedoso. Si bien el aspecto reproductivo de la intoxicación ha sido estudiado a nivel placentario, por sus efectos estrogénicos, abortigénicos y teratogénicos, el útero no había sido producto de estudio con anterioridad al presente trabajo.

El patrón de marcación de las lectinas coincide con reportes anteriores corroborando la utilidad de la lectinhistoquímica para la confirmación de casos de α -manosidosis adquirida.

Conclusión

Los resultados obtenidos en el presente trabajo confirman que *Astragalus pehuenches* produce una enfermedad de almacenamiento lisosomal similar a la que se produce por el consumo de otras especies de plantas que contienen swainsonina. El éxito en la reproducción experimental de la intoxicación, permitirá profundizar los estudios de la enfermedad con el fin de determinar métodos de diagnóstico precoz, tratamiento y/o prevención de la intoxicación en ovinos.

Bibliografía

- Robles C.A., Saber C., Jeffrey M. 2000. Intoxicación por *Astragalus pehuenches* (locoísmo) en ovinos Merino de la Patagonia Argentina. Revista de Medicina Veterinaria. 81: 380-384.
- Schudel, A.A.; Alvarez, C; Clos, P; Kistermann, JC; Blanco Viera, J; Carillo, BJ; Weber, EL. 1997. Scrapie, risk factors in Argentina. Informe técnico de la Secretaria de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación de la Nación Argentina. ISBN: 987-96849-1-5.
- Tokarnia, C.H. 2012. Plantas tóxicas do Brasil para animais de produção. Ed. Helianthus. ISBN 978-85-87809-03-2.

MÉTODOS PARA EL DIAGNÓSTICO *in vivo* DE OVINOS INTOXICADOS POR *Astragalus pehuenches*

Martínez, A.¹; Chodilef, M.¹; Cancelarich, L.²; Ferreyra, M.²; Borrelli, L.³; Rozenfeld, P.²; Gimeno, E.⁴; Robles, C.¹
¹Grupo de Salud Animal INTA Bariloche; ²IIFP. FCE-UNLP-CONICET; ³Laboratorio de Microhistología INTA Bariloche; ⁴Cátedra de Patología. FCV-UNLP

Introducción

Astragalus pehuenches, conocido como “Garbancillo” o “Yerba Loca”, es una leguminosa que está presente en la Patagonia Argentina y produce intoxicación en ovinos, bovinos y equinos. Su consumo causa el locoísmo, una enfermedad de almacenamiento lisosomal clasificada como una α -manosidosis adquirida, que clínicamente se manifiesta con sintomatología nerviosa como disimetría, ataxia, ceguera aparente y decaimiento. En estudios recientes se han encontrado altas concentraciones del alcaloide swainsonina (SW) en poblaciones de *A. pehuenches* en la provincia de Río Negro. Al igual que con otras plantas que contienen SW, la confirmación del diagnóstico de estas intoxicaciones es a través de estudios post-mortem basados en histopatología y lectinohistoquímica.

En este sentido, se plantea la necesidad de contar con herramientas que permitan diagnosticar en forma temprana la intoxicación evitando así animales con sintomatología y mortandades.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar diferentes métodos que permitan realizar el diagnóstico en animales vivos intoxicados por *A. pehuenches*.

Materiales y Métodos

Ocho ovinos fueron divididos en dos grupos: grupo intoxicado (GI, n: 5) y grupo control (GC, n: 3). Durante 54 días el GI recibió *A. pehuenches* molido para lograr una dosis diaria de 2 mgSW/KgPV.

Tanto el GI y GC recibieron como dieta basal una mezcla balanceada de pellet de alfalfa y alimento balanceado comercial. Con diferente frecuencia se obtuvieron muestras de orina, sangre entera y materia fecal del recto. En orina se determinó la presencia de oligosacáridos (OLG) mediante cromatografía en placa delgada (TLC). De la sangre se extrajeron leucocitos que fueron extendidos y teñidos con Giemsa para la identificación de vacuolas citoplasmáticas mediante la observación al microscopio óptico. Sobre la materia fecal se realizó la técnica de microhistología para la observación de fragmentos epidérmicos de *A. pehuenches*.

Resultados

En los animales del GI se observó en orina la excreción de OLG a partir del segundo día de intoxicación, manteniéndose hasta el final del ensayo (Figura 1). En frotis sanguíneo se observaron pequeñas vacuolas citoplasmáticas únicamente en linfocitos a partir de la tercera semana de intoxicación. El grado de vacuolización no se correspondió directamente al progreso de la intoxicación (Figura 2). A partir del 10^{mo} día y hasta el final de la intoxicación se identificaron fragmentos epidérmicos de *A. pehuenches* en la materia fecal (Figura 3). En los animales del GC no se detectó excreción de OLG, vacuolización citoplasmática en leucocitos como tampoco se identificaron fragmentos epidérmicos de *A. pehuenches* a lo largo del protocolo de intoxicación.

Figura 1. Cromatografías en placa fina de la orina de dos animales de ambos grupos. Véase las bandas de oligosacáridos a partir del 2do día de intoxicación.

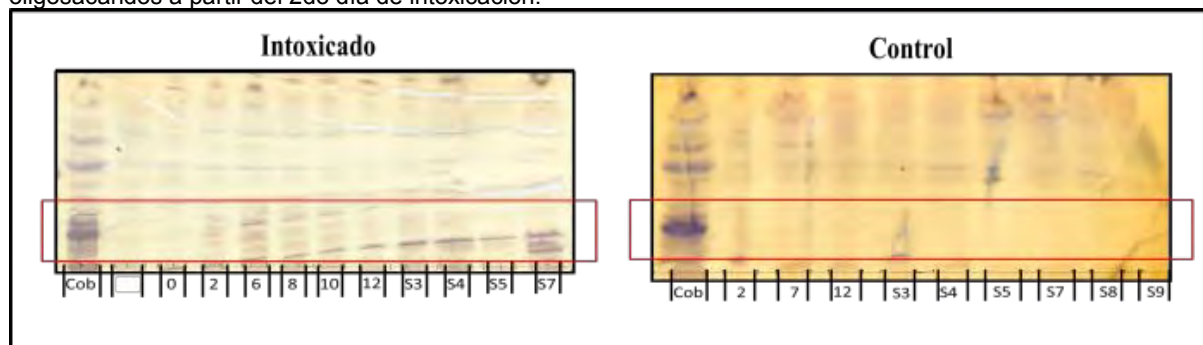
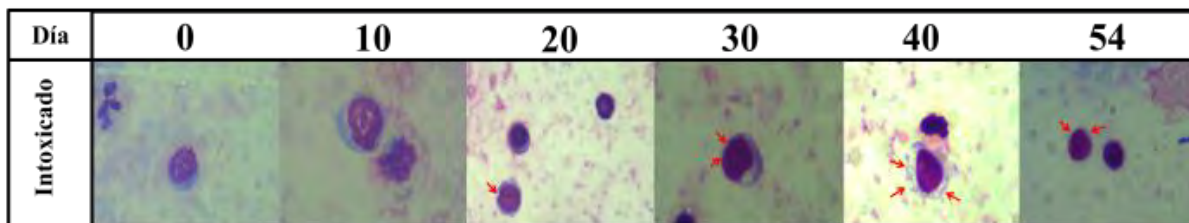


Figura 2. Microfotografías de frotis sanguíneos obtenidos en el periodo de intoxicación. Se observan pequeñas vacuolas citoplasmáticas en linfocitos a partir de la 3er semana de intoxicación.



Las flechas rojas indican las vacuolas citoplasmáticas.

Figura 3. Microhistología de la materia fecal. Se observan los fragmentos epidérmicos de *A. pehuenches* en la materia fecal.

Fragmentos (%)	Intoxicado						Control	
	0	10	20	30	40	60	0	60
Balanceado	67,1	58,1	66,2	79,3	75,2	81,3	69,5	58,2
<i>Medicago sativa</i>	32,9	40,1	30,4	19,1	23,3	17,1	30,5	41,8
<i>Astragalus pehuenches</i>	0	1,8	3,4	1,6	1,5	1,6	0	0

Fragmentos epidérmicos de *Astragalus pehuenches* con claves identificatorias. Tabla comparativa de dieta entre animal intoxicado y control.

Discusión

Mediante los tres métodos utilizados fue posible diagnosticar *in vivo* la intoxicación por *A. pehuenches*. Se destaca la temprana detección de oligosacáridos mediante la técnica de TLC en orina. Si bien es una técnica de alta sensibilidad y especificidad tiene como desventaja la baja practicidad operacional.

Según nuestros resultados, mediante la tinción de Giemsa fue posible visualizar la vacuolización citoplasmática a partir de la tercera semana de intoxicación, siendo similar al tiempo en que comienza a observarse la presentación clínica de la enfermedad.

Según Tokarnia y col, el examen del contenido ruminal como técnica diagnóstica para intoxicaciones por plantas es limitado a plantas de acción aguda y/o que sus componentes tóxicos estén lignificados (semillas, vainas, etc.). Sin embargo, como fue demostrado en el presente trabajo donde se utilizó *A. pehuenches*, el cual necesita que su consumo sea prolongado y no contiene elementos altamente lignificados, la microhistología sobre materia fecal podría ser utilizada como técnica diagnóstica en intoxicaciones vegetales crónicas. Si bien el resultado de esta técnica sólo indica el consumo de la planta, sin discriminar entre plantas con o sin SW; en zonas donde existen poblaciones tóxicas esta técnica ofrecería una excelente herramienta para la detección temprana del consumo. Además, la técnica de microhistología estimó con muy buena aproximación, el porcentaje que compone el *A. pehuenches* en el total de la

dieta, con lo cual sería una ventaja ya que se podría vigilar el grado de consumo por parte de los animales y retirarlos del potrero antes de que lleguen a valores altos que produzcan sintomatología clínica.

Un próximo paso es mejorar los tiempos de realización de cada técnica con el fin de poder ser aplicadas y tener la información en el momento, de esa forma se podrá tomar decisiones del manejo de pastoreo de los animales.

Conclusión

Futuros trabajos deberán estar enfocados en mejorar los métodos propuestos para ser validados en el diagnóstico de animales vivos intoxicados por *A. pehuenches* y posiblemente implementarse en estrategias de monitoreo de animales que estén pastoreando sobre potreros problemáticos.

Bibliografía

- Bedin, M.; Colodel, E.M.; Giugliani, R.; Zlotwski, P.; Cruz, C.E.F.; Driemeier, D. 2009. Urinary oligosaccharides: A peripheral marker for *Sida carpinifolia* exposure or poisoning. *Toxicon*. 53:591-594.
- Jolly, R.D. & Walkley, S.U. 1997. Lysosomal storage disease of animals: an assay in comparative pathology. *Veterinary Pathology*. 34: 527-548.
- Tokarnia, C.H. 2012. Plantas tóxicas do Brasil para animais de produção. Ed. Helianthus. ISBN 978-85-87809-03-2.

INTOXICACIÓN POR *Heterophyllaea pustulata* EN EL NOROESTE ARGENTINO

Micheloud; J.F.

¹Área de Sanidad Animal-IIACs Leales/INTA-Salta

Introducción

Heterophyllaea pustulata Hook f. (Rubiaceae) es un arbusto conocido vulgarmente como “ceguera”, en alusión a uno de los efectos tóxicos que produce: ceguera. Esta especie crece en el ecotono entre bosque montano y pastizal serrano -de altitud superior a los 1.000 metros sobre el nivel del mar- de las provincias argentinas de Jujuy, Salta y Tucumán. La toxicidad de esta especie si bien se conoce desde hace años los estudios al respecto son escasos.

Hansen y Martiarena en 1968 describieron que la ingesta de esta planta produce dermatitis y en casos severos queratoconjuntivitis (ceguera), particularmente en animales de capas despigmentadas; y definieron la toxicidad como una reacción de fotosensibilización primaria. Localmente los pobladores mencionan casos naturales de la intoxicación en varias especies animales siendo caprinos y ovinos los más frecuentemente afectados. Según un trabajo donde se efectuaron encuestas a productores caprinos de los Valles templados de Salta y Jujuy, el 63,6% de los productores dijo tener problemas de intoxicación con esta especie. También, este problema fue declarado en un 38,1% de las UP de la región de quebradas áridas en Salta y Jujuy. Normalmente el problema afecta a varios animales dentro de la majada. En un brote reportado en ovejas en el paraje las juntas próximo a la localidad de Guachipas se observó una incidencia de más del 50 % de la majada.

En el presente trabajo se describe aspectos clínicos, patológicos y toxicológicos de esta intoxicación en el noroeste argentino (NOA).

Toxicidad de la planta

La toxicidad de esta especie se debe a la presencia antraquinonas agliconas (AQs) de acción fotosensibilizante, Son seis los derivados mayoritarios identificados: soranjidiol, 1-metil éter de soranjidiol, rubiadina, 1-metil éter de rubiadina, damnacantal y damnacantol. La lipofilia característica de estas AQs favorece su absorción en el intestino delgado, consiguiente transporte sistémico y acumulación cutánea. Estas sustancias inducen fototoxicidad por varias vías. Esencialmente cuando el sol incide sobre ellos se excitan induciendo la liberación de oxígeno singlete o radicales libres quienes producen daños oxidativos sobre las membranas celulares.

A planta adulta de *H. pustulata*. **B**: Detalle de la flor **C**: detalle de la hoja donde se pueden apreciar las glándulas lisígenas (punto negro) típicos de esta especie que sirven para su identificación a campo.



Aspectos clínicos

Los signos clínicos de fotosensibilización aparecen 24-72 horas post ingestión. La rapidez con la que se instala el cuadro variara según la dosis y la exposición a la luz solar. En los animales de capas despigmentadas y sin pelos los signos pueden ser más severos y tempranos.

Los primeros signos observables son intranquilidad, los animales se relamen constantemente y comienzan a sufrir congestión ocular con lagrimeo. Este cuadro rápidamente progresa a la fotofobia, los animales buscan desesperadamente la sombra y refugios para protegerse del sol. En cabras y ovejas al segundo o tercer día de iniciado el cuadro sobreviene edema de los párpados, las orejas y toda el área facial. En cabras Saanen intoxicadas experimentalmente entre el quinto y sexto día la fotofobia cesa gradualmente. Durante todo este periodo los animales sufren anorexia severa. Más tarde las áreas lesionadas sufren necrosis extensa y se forman grietas y costras. Quince o 20 días después ya se inicia la reparación pero el cuadro puede demorar meses en revertirse. En los estadios crónicos la piel queda como acartonada y engrosada debido a la hiperqueratosis epidérmica. En la región de las orejas la piel se endurece y se retrae dándole un aspecto de cuero seco.

Por tratarse de una fotosensibilización primaria no hay afección hepática concomitante por lo que los animales no presentan ictericia y la mortalidad es baja o inexistente. Este rasgo es

importante como medio para diferenciar esta intoxicación de otros cuadros de fotosensibilización secundaria. Pese a todo esto durante la primera semana, algunas de las enzimas hepáticas (AST) suelen elevarse un poco al igual que la bilirrubina. Esta elevación inespecífica puede deberse a los fenómenos de necrosis tisular de la piel a la hemólisis que hay en los vasos cutáneos por efecto del sol.

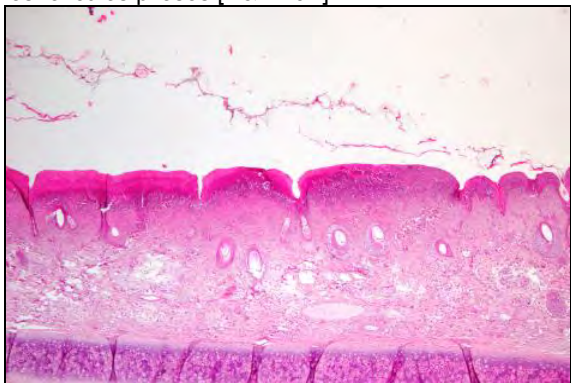
A-Lesiones cutáneas en una oveja donde puede observarse extensa lesión facial.



Aspectos patológicos

Como ya se mencionó estos cuadros rara vez son capaces de inducir la muerte. Los aspectos dermatopatológicos de esta intoxicación son los característicos de cualquier cuadro de fotosensibilización primaria. En general, la lesión histopatológica a nivel cutáneo en los cuadros de fotosensibilización es definida como "necrosis coagulativa de la epidermis". Además se identifica acantosis focal, exudación, paraqueratosis y ocasionalmente disqueratosis. En casos severos se ven afectados también el epitelio folicular, las glándulas anexas y la dermis superficial incluso el cartílago auricular. En la dermis superficial se observa fibroplasia con la presencia de muchas fibras colágenas ligeramente basófilas y delgadas.

Histopatología de piel. Dermatitis necrotizantes con formación de costras. Se observa necrosis extensa de todo la epidermis con degeneración y necrosis de los folículos pilosos [H&E 40X].



Discusión y Conclusiones

A nivel mundial solo un pequeño grupo de plantas son incluidas entre las fotosensibilizantes primarias. En Argentina otra especie reconocida por inducir foto-toxicidad es *Ammi majus*, sin embargo su importancia parece ser mucho menor que *H. pustulata*. Esta especie, está limitada a zonas de serranías en las provincias de Tucumán, Salta y Jujuy donde la ganadería es una de las principales actividades económicas. En esos sitios su impacto es de gran importancia, tal es así que más de la mitad de los productores de los Valles templados de Salta y Jujuy dijo tener problemas de intoxicación con esta especie.

La intoxicación por esta especie normalmente ocurre en el periodo estival ya que *H. pustulata* es una de las primeras en brotar tras el invierno cuando la oferta forrajera es baja. En estas condiciones las majadas consumen la planta e inmediatamente desarrollan trastornos de piel muy severos que muchas veces culminan en bicheras que deben ser tratadas reiteradamente. Los animales de color aunque no sufran lesiones cutáneas suelen desarrollar daños oculares. Las lesiones oculares reiteradas hacen que los animales desarrollen ceguera lo que les dificulta el pastoreo en las zonas quebradas. Muchas veces los animales mueren tras desbarrancarse en las serranías.

En las regiones donde *H. pustulata* se habita, la cría de cabras y ovejas a mediana y pequeña escala tiene gran importancia en el desarrollo local. Conocer en profundidad lo que ocurre en esta enfermedad, los aspectos toxicológicos, patológicos y epidemiológicos es crucial para tomar correctas medidas de control para prevenir la enfermedad.

Bibliografía

- Hansen, E.W. and Martiarena, C.A., 1967. Contribución al estudio de la toxicidad de *Heterophyllaea pustulata* Hook "cegadera" en el ganado, Revista Investigación Agropecuaria (RIA) (INTA) 4, 81-113.
- Micheloud JF, Colque-Caro LA, Comini LR, Cabrera JL, Núñez-Montoya S, Martínez OG, Gimeno EJ: Spontaneous photosensitization by *Heterophyllaea pustulata* Hook. f. (Rubiaceae), in sheep from Northwestern Argentina. Tropical Animal Health and Production 07/2017.
- Núñez-Montoya, S.C., Comini, L.R., Rumie-Vittar, B., Fernandez, I.M., Rivarola, V.A., Cabrera, J.L., 2008. Phototoxic effects of *Heterophyllaea pustulata* (Rubiaceae). Toxicon 51, 1409-1415.
- Suárez, V.H.; Doderó, A.M.; Almudevar F.M.; Bertoni, E.A.; Salatin, A.O; Viñabal, A.E.; Saldaño, R.; Martínez, G.M.; Micheloud, J.F.; Fiorentino, M.A.; Brihuega, B.; Romera S.A. Presencia de enfermedades y prácticas de manejo en majadas caprinas de los valles templados del noroeste argentino. Vet. Arg. – Vol. XXXIV – N° 356 – Diciembre 2017.

AVANCES SOBRE EL ESTUDIO DE LA MASCADERA CAPRINA

Micheloud, J.^{1,2}; Vera, T.³; Robles, C.⁴

¹Área de Salud Animal (IIACS) INTA Salta; ²FCV, Universidad Católica de Salta; ³IPAF NOA, INTA Jujuy; ⁴Grupo de Salud Animal, INTA Bariloche

Introducción

La “mascadera caprina” es una enfermedad de etiología desconocido que se conoce desde hace tiempo en varias regiones de Argentina. Es de naturaleza crónica y afecta a hatos caprinos de Jujuy, Salta, La Rioja, Catamarca, Córdoba, San Luis, Neuquén, La Pampa y Río Negro. Debe tenerse en cuenta que en estas provincias se concentra una gran proporción del stock caprino nacional. Los animales afectados tienen dificultades en la masticación, manifestando severa pérdida de peso, emaciación y finalmente evolucionan hacia la muerte en un periodo variable de tiempo. En el marco del proyecto nacional de INTA Sanidad de Ovinos, Caprinos y Camélidos Sudamericanos se efectuaron esfuerzos para avanzar sobre aspectos etio-patogénicos de la enfermedad.

Aspectos clínicos

La mascadera es una enfermedad crónica. La evolución del cuadro puede ser de semanas a meses. Un animal afectado normalmente muere en 2 o 3 meses de iniciado el cuadro pero esto puede extenderse en caso que se produzcan periodos de mejora transitoria. Inicialmente los individuos afectados evidencian temblores apenas perceptibles de los labios y del maxilar inferior, que progresa a severos trastornos de la masticación caracterizados por movimientos masticatorios rápidos, desordenados y espasmos mímicos característicos. En casos severos además se aprecia la pérdida de licor ruminal por las comisuras labiales durante la rumia, que se evidencia por la presencia de pequeños charcos en el suelo donde los animales descansan y una “típica” coloración verdosa de los labios, mentón y la barbilla (cuando esta, está presente). En estadios finales se observa parálisis total de la mandíbula inferior. Estos animales no pueden permanecer con la boca cerrada y en algunos casos se observa bolo alimenticio acumulado en vestíbulo de la comisura labial entre los carrillos y los molares. Los aspectos hematológicos y bioquímicos de los animales intoxicados no muestran alteraciones de relevancia y son compatibles con un cuadro consuntivo.

Aspectos patológicos

En todos los animales se observó mal estado general, atrofia serosa de la grasa del omento, peri-renal pericárdica. En la mayoría de los casos se observó grados variables de atrofia de los músculos masticatorios y de la lengua. En general estas lesiones no eran muy perceptibles. Al cortar transversalmente la lengua a nivel del tórus lingual se observaron estrías blanquecinas a nivel de los músculos extrínsecos. En los casos provenientes de Salta, a la apertura del rumen se encontró una alta proporción de semillas de algarrobo negro en el contenido.

En el 100% de los casos en que se muestreo músculo buccinador, masetero y lengua se apreciaron cambios degenerativos, con hipereosinofilia citoplasmática, pérdida de estriaciones y fragmentación de las fibras musculares. En algunos fascículos musculares, la degeneración era tan grave que el tejido muscular fue sustituido por abundante tejido conjuntivo y flóculos hialinos. Todos los casos presentaban infiltración mononuclear focalizada o difusa, de grado variable. En el 30% de las muestras se apreció hiperplasia de las glándulas salivales linguales y del buccinador. En las muestras de encéfalo procesadas se apreció gliosis focalizada con vacuolización difusa y tumefacción de algunos cuerpos neuronales en los núcleos motores de los nervios trigémino, facial e hipogloso. Los demás órganos no presentaron lesiones de relevancia.

A y B: cabras afectadas por la enfermedad. **C:** atrofia moderada de masetero. **D:** abundante presencia de semillas de *Prosopis nigra* en material ruminal.



Hipótesis de causalidad

Las lesiones histológicas encontradas indican severa degeneración y atrofia de los músculos maseteros y linguales, lo que permite explicar los trastornos en la masticación y deglución observados en las cabras afectadas. La degeneración, vacuolización neuronal y gliosis observada en los núcleos nerviosos del nervio trigémino, hipogloso y facial indican que posiblemente la atrofia muscular de la lengua y el masetero se deban a trastornos en la innervación. En tal sentido, las lesiones nerviosas se identificaron en el 100% de los casos evaluados. Una enfermedad similar a la "mascadera caprina" fue descrita con el nombre de "coquera" en Perú y se la reprodujo experimentalmente en cabras administrando chauchas de *Prosopis juliflora*. En Brasil se citan cuadros de intoxicación debidos al consumo de la misma planta en caprinos y bovinos. Las lesiones descritas en todos los casos son degeneración y atrofia muscular severa de los músculos maseteros y linguales, tumefacción y vacuolización difusa de las neuronas de los núcleos hipogloso y trigémino. Todos estos hallazgos son coincidentes con lo aquí descrito. En el mismo sentido, en cinco brotes de la enfermedad ocurridos durante el periodo 2014-2015 en la provincia de Salta se observó que las áreas de pastoreo estaban constituidas por Algarrobales en donde la especie predominante era *Prosopis nigra* (98%). En concordancia, los productores relataron que meses previos a la aparición de los primeros casos (3-6 meses) la alimentación de los animales se basó casi exclusivamente con chauchas de esta especie y mencionaron que la fructificación había sido tan abundante que los frutos tapizaban el área de pastoreo y que perduraron por más de 5 meses. En la misma línea un estudio llevado a cabo en cabras de Neuquén en donde se evaluó por micro-histología la dieta de los animales, se observó que: los animales enfermos consumían una mayor proporción de especies arbustivas entre las que se encontraba *Prosopis alpataco*. La abundancia de especies de este género en las regiones donde la enfermedad ha sido observada es un hallazgo epidemiológico muy sugerente. Con *Prosopis juliflora*, los caprinos deben recibir una dieta con un 60-90% de chauchas en la dieta durante un período de aproximadamente 210 días para presentar signos clínicos. *Prosopis spp.* son en su gran mayoría freatófitas, colonizadoras o invasoras que resisten la salinidad, alcalinidad y el frío. Es de esperar que una ha con unas 100 plantas adultas de *Prosopis flexuosa* por ejemplo, puedan producir entre 400-500 Kg de frutos en una temporada lo que constituyen un alimento valioso para el ganado y para la población regional. Por otro lado, la gran cantidad de chauchas que deben ser

consumidas y el tiempo requerido para reproducir experimentalmente la enfermedad se ajustan la gran variabilidad de la morbi-mortalidad encontrada en las distintas regiones año a año. Según datos previos la morbilidad promedio registrada en las majadas afectadas es de 8,8% (con un rango de 34 al 0,5%) y la letalidad del 87,3% (con un rango de 100 al 25%).

Conclusión

Si bien, en trabajos anteriores se ha hipotetizado que la mascadera caprina es producto de una indigestión retículo-ruminal causada por la ingestión de alimento de baja degradabilidad que genera estasis ruminal y la absorción de sustancias tóxicas normalmente degradadas o no sintetizadas en el organismo sano. No debe descartarse la posibilidad de una intoxicación crónica debido al consumo de chauchas de plantas del género *Prosopis*. Esta hipótesis se fundamenta en la similitud de la signología clínica y las lesiones histopatológicas encontradas con la intoxicación por *Prosopis juliflora*. Hasta la fecha y basándonos en todos los hallazgos mencionados anteriormente, todas las evidencias sugieren que algunas de las especies de *Prosopis* nativas está vinculada al cuadro.

Finalmente creemos es imperioso se intensifiquen los estudios respecto a esta enfermedad puesto que grandes pérdidas se suscitan año a año en las majadas caprinas de una gran región del país. El desconocimiento respecto a su etiopatogenia y otros factores asociados determina que no puedan tomarse las medidas adecuadas para prevenirla.

Bibliografía

- Colque Caro LA, Micheloud, JF, Bravo RD, Rodriguez MA, Cortez G, Martinez O, Gimeno EJ. 2015. Mascadera caprina en la provincia de Salta: Descripción de 5 brotes. 9^{no} Seminario de la Fundación "Charles Louis Davis", Salta, Argentina.; 09/2015.
- Micheloud JF, Vera TA, Colque Caro LA, Gimeno EJ: Clínico-pathological findings in natural cases of "mascadera" in goats. Tropical Animal Health and Production 09/2017, DOI: 10.1007/s11250-017-1422-5.
- Robles, C. La "Mascadera" en caprinos. Rev. Presencia. 2011, N°58 -
- Vera, T. A.; Leguiza, H. D.; Chagra Dib, E. P.; Brizuela, E. R.; Biurrun, F. N., 2015. "Mascadera en cabras de La Rioja. Estudio retrospectivo de valores Hemáticos Y Sericos" - 9no Seminario de la Fundación "Charles Louis Davis", Salta, Argentina.; 09/2015.

ASPECTOS DE LA DIETA EN CAPRINOS AFECTADOS POR “MASCADERA” EN LA PROVINCIA DEL NEUQUEN, ARGENTINA

Robles, C.¹; Borrelli, L.²; Siffredí, G.³; Pelliza, A.²

¹Grupo de Salud Animal; ²Laboratorio de Microhistología; ³Grupo Manejo de Pastizales. INTA Bariloche

Introducción

La “Mascadera” es una enfermedad observada en caprinos en las regiones de Cuyo, NOA y Patagonia. Clínicamente se caracteriza por la presencia de animales con movimientos de rumia permanentes y exagerados, regurgitación de licor ruminal, rumen distendido, temblores en el morro, adelgazamiento progresivo y muerte (Fotos 1 y 2). En Patagonia se observa la “Mascadera” tanto en caprinos criollos como de Angora y a fin de avanzar sobre la posible causa de la enfermedad, se realizó un estudio de la dieta en animales afectados y sanos en un hato de la provincia de Neuquén.

Foto 1. Regurgitación de contenido ruminal manchando de verde los labios del animal.



Foto 2. Cabra criolla afectada, con movimientos masticatorios exagerados.



Materiales y Métodos

Se realizó un estudio en un establecimiento caprino de la provincia del Neuquén donde, sobre un total de 600 animales, ya llevaban

muerdos más de 150 a causa de la enfermedad. Se realizó una evaluación forrajera del establecimiento y a comienzos del otoño, se tomaron muestras de heces directamente del recto a 6 animales con signos evidentes de la enfermedad y a 5 animales sanos del mismo hato a fin de determinar por el método microhistológico qué plantas fueron consumidas por los animales.

Resultados

El establecimiento presentaba principalmente dos paisajes, uno de “valle”, representado por una estepa arbustiva dominada por *Prosopis alpataco* (Foto 3) y *Atriplex lampa*, con una cobertura aérea de entre 20-30% y pastos anuales como *Schismus barbatus*, *Hordeum sp.* y *Bromus tectorum*, que no superan el 5% de cobertura aérea. El otro paisaje era de “lomas bajas”, representado por una estepa arbustiva de *Prosopis alpataco* y *Atriplex lampa* con una cobertura aérea de entre 20-30%, acompañados por *Acantholippia seriphioides*, *Bougainvillea spinosa* y *Chuquiraga histrix*.

Foto 3. Alpatacos presentes en el establecimiento problema.



La oferta forrajera se limitaba a *Atriplex lampa* y en menor medida a los frutos de *Prosopis alpataco* durante el verano y otoño, y a la de las especies anuales al comienzo de la primavera. En ambos paisajes se observó la ausencia de un estrato de pastos perennes, posiblemente debido a las condiciones naturales sumadas al pastoreo continuo del ganado caprino, estimándose su productividad entre 100 y 300 Kg. MS/ha/año.

En la siguiente tabla puede apreciarse la dieta comparada de los animales estudiados.

Nº animal	Dieta Cabras Enfermas						Prom	Prom	Dieta Cabras Sanas				
	1	2	3	4	5	6	Enf	Sanas	7	8	9	10	11
	%	%	%	%	%	%			%	%	%	%	%
PASTOS PERENNES													
Distichlis sp. (pasto salado)	0	1	1	3	2	1	1.4	0.7	0	0	2	1	0
Festuca sp. (coirón blanco)	0	0	0	0	0	0	0.0	0.1	1	0	0	0	0
Panicum sp.	1	0	2	0	0	0	0.6	0.8	0	1	1	0	2
Stipa sp. (coirón amargo)	1	0	7	0	12	0	3.2	9.9	14	8	11	8	8
Gramínea sin identificar	0	0	0	1	4	0	0.8	1.7	0	0	6	1	0
Total pastos perennes	2	1	10	4	17	2	6.1	13.3	15	9	21	11	11
GRAMINOIDEAS													
Carex sp.	0	0	0	0	0	0	0.0	0.2	0	0	0	1	0
Eleocharis albibracteata	0	0	0	0	1	0	0.2	0.0	0	0	0	0	0
Total graminoideas	0	0	0	0	1	0	0.2	0.2	0	0	0	1	0
ARBUSTOS													
Atriplex lampa	17	35	33	22	33	17	26.1	28.2	32	37	19	21	31
Cassia aphylla	0	0	0	0	0	0	0.1	0.0	0	0	0	0	0
Chuquiraga hystrix (chilladora)	0	0	25	1	16	6	7.9	30.0	35	38	16	25	36
Gutierrezia sp.	2	0	2	0	0	0	0.7	0.0	0	0	0	0	0
Grindelia sp.	0	0	0	4	0	3	1.1	0.1	0	0	0	0	0
Hyalis argentea (olivillo)	0	1	1	0	0	0	0.3	3.0	4	1	7	2	1
Junellia seriphioides (verbena)	0	0	17	3	9	2	5.2	13.3	7	8	19	18	14
Larrea sp. (jarilla)	1	0	1	0	0	0	0.4	0.9	1	1	3	0	0
Lycium chilense (yaoyín)	1	1	0	3	1	1	1.2	0.2	0	0	1	0	0
Prosopis alpataco (alpataco)	21	14	3	11	9	12	11.9	3.5	0	0	8	6	4
Retanilla patagonica	0	0	0	0	0	0	0.0	1.1	0	0	0	6	0
Schinus molle (molle)	2	3	6	1	6	1	3.1	1.5	3	2	0	2	0
Suaeda divaricata (vidriera)	23	16	1	9	4	12	10.5	1.7	0	3	3	3	0
Pinus sp.	0	0	0	0	0	0	0.0	0.4	0	0	0	0	2
Arbusto sin identificar	0	0.4	0	0	0	0	0.1	1.1	3	2	0	0	0
Total arbustos	68	71	90	53	78	52	68.6	85.0	85	91	78	81	89
HIERBAS													
Erodium cicutarium	0	0	0	0	0	0	0.1	0.0	0	0	0	0	0
Verbascum taphus	0	2	0	0	2	1	0.8	0.0	0	0	0	0	0
Plantago sp.	0	0	0	0	0	0	0.1	0.1	0	0	0	0	0
Hierba sin identificar	0	0	0	1	1	1	0.6	0.9	0	0	0	4	0
Fruto sin identificar	10	6	0	17	1	16	8.3	0.0	0	0	0	0	0
Malvaceae	20	18	0	25	0	27	15.2	0.6	0	1	0	2	0
Total hierbas	30	27	0	43	4	45	25.1	1.6	0	1	0	7	0

Discusión

De todas las especies determinadas en las heces, sólo cuatro fueron consumidas por los 6 animales enfermos: *Atriplex lampa*, *Prosopis alpataco*, *Schinus molle* y *Suaeda divaricata*. Para el caso del *Atriplex lampa*, se pudo observar que los animales enfermos y sanos la consumieron en porcentajes similares (26 vs. 28%). El *Schinus molle* fue consumido por todos los enfermos y algunos sanos, pero en muy bajos porcentajes (3,1 vs. 1,5%). Finalmente *Prosopis alpataco* y *Suaeda divaricata*, fueron comidas por todos los animales enfermos y algunos de los sanos siendo muy superior el consumo de dichas especies en los enfermos (11,9 vs. 2,5% para *Prosopis alpataco* y 10,5 vs. 1,7% para *Suaeda divaricata*) por lo cual se piensa que estas, serían las especies con mayor probabilidad de estar involucradas en la producción de la enfermedad ya sea por una cuestión de baja digestibilidad que genere un disturbio en la digestión de los alimentos, o por la presencia de algún compuesto tóxico en las mismas. En este sentido, en Brasil y Perú se ha descrito que la ingesta de *Prosopis juliflora* por parte de caprinos produce

temblores mandibulares y lesiones neuronales en el ganglio trigémino y núcleo oculomotor, por lo que se están conduciendo nuevos trabajos para determinar si la ingesta de *Prosopis alpataco*, produce lesiones similares en el sistema nervioso de cabras enfermas de Mascadera.

Bibliografía

- Lima E.F.; Riet-Correa F.; Amorim S.L.; Sucupira Júnior G. 2004. Intoxicação por favas de *Prosopis juliflora* (algaroba) em caprinos no nordeste do Brasil. Intoxication by pods of *Prosopis juliflora* in goats in northeastern Brazil. Pesquisa Veterinária Brasileira. Centro de Saúde e Tecnologia Rural, UFCG, Campus de Patos, Brazil.
- Robles, C. La "Mascadera" en caprinos. Rev. Presencia. 2011, N°58 -
- Rossanigo, C; Sager, R; Vera, T; Frigerio, K; Silva, J. Investigación diagnóstica sobre el origen de la Mascadera caprina en la República Argentina. Rev. Med. Vet. 2003; 84: 254-260.
- Tabosa, I.M.; Riet-Correa, F.; Barros, S.S.; Summers, B.A.; Simões, S.V.; Medeiros, R.M.; Nobre, V.M. 2006. Neurohistologic and Ultrastructural Lesions in Cattle Experimentally Intoxicated with the Plant *Prosopis juliflora*. Vet Pathol 43:000-000.

“MASCADERA” EN CABRAS DE LA RIOJA: ESTUDIO RESTROSPECTIVO DE VALORES HEMÁTICOS Y SÉERICOS

Vera, T.A.¹; Leguiza, H.D.²; Chagra Dib, E.P.²; Brizuela, E.R.³; Biurrun, F.N.¹
 INTA EEA: ¹La Rioja; ²Salta; ³UNLaR-Sede Capital

Introducción

La "mascadera, atascadera, parásito verde o mal del verde" es una patología que afecta al ganado caprino, en sistemas de producción extensivos de zonas marginales de Argentina. Fue descrita por Rossanigo *et al.* (1994), Vera *et al.* (2001) y Micheloud *et al.* (2012) en hatos caprinos de la región.

En la actualidad se desconoce su etiología, patogenia y tratamiento médico, pero hallazgos de degeneración vacuolar de neuronas de los núcleos nerviosos del nervio trigémino, facial y glossofaríngeo (Micheloud *et al.*, 2012) abre nuevas hipótesis.

El objetivo del presente trabajo es aportar información retrospectiva de valores hematológicos y serológicos de cabras que presentan mascadera.

Materiales y Métodos

Entre abril y setiembre de 2001, se visitaron 100 establecimientos caprinos de los Llanos de La Rioja para detectar presencia de la enfermedad caprina denominada "mascadera", encontrándose la misma en 4 establecimientos: "Las Vizcacheras": Total Cabras (TC): 175; Enfermos (E): 2 y Muertos (M):1; "El Telarito": TC: 300; E: 2 y M: 1; "La Ensenada": TC: 230; E: 8 y M: 1 y "La Merced": TC: 215; E: 2 y M: 1. En estos establecimientos, se tomaron muestras de sangre a un total de 27 cabras (13 sanas -testigos- y 14 enfermas). Las determinaciones realizadas fueron: Citológico completo (Coloración May-Grünwald-Giemsa y Recuento en cámara), Hematocrito (Colorimétrico), Amilasa (Colorimétrico), GOT, GPT (Cinético) y Urea (Colorimétrico). Se presentan medidas descriptivas de los resultados.

Resultados

El relevamiento determinó una prevalencia entre establecimientos del 4% y de la enfermedad del 1,5%, una letalidad del 28,6% y una mortalidad del 0,4%.

Los valores hematológicos y bioquímicos observados en cabras sanas y afectadas por "mascadera" se presentan en el Cuadro 1 y 2, respectivamente.

Cuadro 1. Valores hematológicos de cabras sanas y afectadas por "mascadera".

Condición	Análisis	Media	CV	Min	Max
Enfermo	Glóbulos Rojos (mil/mm ³)	3,83	9,7	3,2	4,6
Sano		3,79	8,8	3,3	4,4
Enfermo	Hb. (g/dl)	11	8,0	10	12
Sano		11,38	7,6	10	13
Enfermo	Hematocrito (%)	27,79	24,4	15	38
Sano		27,23	29,1	17	36
Enfermo	Glóbulos Blancos (mil/mm ³)	7367,9	30,7	5700	14100
Sano		6665,4	15,3	4900	8100
Enfermo	Ns. (%)	55	19,7	41	80
Sano		52,23	16,1	38	66
Enfermo	E (%)	3,71	93,5	0	11
Sano		4,31	110,7	1	17
Enfermo	L (%)	38,57	26,9	19	51
Sano		39,69	18,5	27	49
Enfermo	M (%)	2,29	55,4	0	4
Sano		2	73,6	0	4

Ref.: Hb.: Hemoglobina, Ns: Neutrófilos Segmentados, E.: Eosinófilos, L: Linfocitos y M: Monocitos

Cuadro 2. Valores bioquímicos de cabras sanas y afectadas por "mascadera".

Condición	Análisis	Media	CV	Min	Max
Enfermos	GOT (U/L)	139,8	34	84	196
Sanos		133	34,1	72	187
Enfermos	GPT (U/L)	49,6	52,7	14	91
Sanos		46,9	56,2	16	88
Enfermos	Urea (mg/dl)	0,5	18,9	0,3	0,56
Sanos		0,4	16,3	0,3	0,62
Enfermos	Amilasa (U/L)	49,3	21,2	30	77
Sanos		51,8	50,1	18	129

Foto 1. Cabra con típico signo externo de “mascadera”



Foto 2. Pérdida de licor y contenido vegetal por una cabra con “mascadera” luego del proceso de rumia.



Discusión

Los valores hematológicos y bioquímicos encontrados concuerdan con valores de salud de referencia (Manual Merk, 1993 y Raggi *et al.*, 1986), siendo similares entre cabras sanas y afectadas por “mascadera”. Por otro lado, muestran ausencia de infecciones primarias o secundarias y de anemia, hallazgos típicos en cuadros de caquexia, como la que caracteriza a la “mascadera”. Posiblemente, la ausencia de anemia e infecciones se deba a que los animales afectados por “mascadera” se encontrarían en una etapa inicial de la enfermedad. Por otra parte, los resultados de la bioquímica sérica, descartan que la “mascadera” produzca alteraciones que comprometan la funcionalidad del hígado, páncreas, riñón o músculos esqueléticos (Manual Merk, 1993).

Conclusión

Las determinaciones hematológicas y/o serológicas realizadas, no permitirían ser utilizados como una herramienta diagnóstica para diferenciar entre cabras sanas y afectadas por “mascadera” en sistemas extensivos de producción. En consecuencia, los aspectos hematológicos y bioquímicos de los animales afectados por “mascadera” son compatibles con un cuadro consuntivo.

Se hace necesario continuar investigando sobre esta enfermedad, a fin de esclarecer su etiopatogenia, para prevenir su ocurrencia y/o establecer su tratamiento, además de brindar nuevas y posibles herramientas diagnósticas.

Bibliografía

- Manual Merk de Veterinaria. 1993. 4º Ed. Océano/Centrum, Barcelona, España. 2092 pp.
- Raggi, L y Boza Lopez J., 1986. Monografías de Medicina Veterinaria Vol.8 (1).
- Rossanigo *et al.* 1994. VII Reunión Nacional de Producción Caprina: pp 86.
- Micheloud *et al.*, 2012. VIIIª RAPaVe - VIº Seminario de la Fundación Charles Louis Davis. Pag. 96.
- Vera *et al.*, 2001. Informe modulo La Rioja para el Proyecto macoregional Cuyo de producción caprina. INTA. 3 pag.

PRESUNCIÓN DIAGNÓSTICA DE INTOXICACIÓN POR *Colliguaja integerrima* EN MORTANDAD DE CORDEROS ALIMENTADOS A CORRAL

Aguilar, M.¹; Martínez, A.²; Robles, C.²
¹INTA San Julián; ²INTA Bariloche

Introducción

La producción ovina es la principal actividad ganadera en la Meseta Central Santacruceña. La misma se caracteriza por ser extensiva con baja carga animal, siendo la lana el ingreso más relevante y la carne en segundo lugar. Teniendo en cuenta la falta o escasez de ovinos de consumo durante los periodos de invierno y primavera¹ y el buen precio que se puede obtener a la venta en esta época del año, algunos productores manejan determinadas categorías en forma diferida y aplicando la cría intensiva. Este cambio de manejo predispone a la aparición de problemas sanitarios de origen infeccioso, parasitario y/o tóxico. En el presente trabajo se describe una mortandad acontecida en corderos Merino criados a corral en la Meseta Central Santacruceña donde se sospecha que el consumo de *Colliguaja integerrima* fue el causante del brote.

Materiales y Métodos

En Octubre del 2014 en un establecimiento que aplica la cría a corral, se produjo la muerte de cuatro corderos de entre 1 y 2 meses de edad. Ante el aviso del propietario, se asistió al establecimiento donde se observó un cordero en decúbito, con taquicardia, disnea, respiración entrecortada, salivación profusa y convulsiones esporádicas y que media hora después murió. El lote compuesto por 150 ovejas y 100 corderos se encontraba estabulado en un corral de 350 m², los corderos recibían una suplementación diferencial al pie de la madre (creep feeding). Las madres eran alimentadas desde hacía dos meses con heno de alfalfa y alimento balanceado formulado para ovinos con 14% de proteína bruta (PB) y 20 días previos al parto fueron vacunadas contra enfermedades clostridiales y desparasitadas con un endectocida. Los corderos tenían acceso a un corral contiguo donde recibían heno de alfalfa y alimento balanceado formulado para ovinos con 16% PB. A fin de determinar la causa de la muerte se realizó la anamnesis del caso, necropsia y muestreo del animal afectado. De la necropsia se tomaron muestras de hígado, bazo, riñón, pulmón, corazón y SNC que fueron fijadas en formol bufferado al 10%, procesadas por técnicas histológicas de rutina y teñidas con HyE. Para la posterior identificación botánica, se cosecharon muestras de un arbusto en

floración, que se encontraba en el corral donde solo podían entrar los corderos.

Resultados

De la anamnesis se desprende que los cuatro corderos muertos en el transcurso de las 48 hs previas a nuestra visita al establecimiento, presentaban similar sintomatología al necropsiado: decúbito, salivación profusa transparente o verde, disnea y convulsiones. Al revisar los 95 corderos restantes del lote se observó que los mismos estaban clínicamente normales, determinando una mortalidad del 5%. Tres corderos mostraban costras secas en los garrones posiblemente como indicio de una diarrea anterior (Foto 1).

Foto 1. Corderos con costras secas en garrones.



A la necropsia se observó congestión en SNC e intestino delgado principalmente en yeyuno (Foto 2) y petequias en diafragma. No se encontró contenido en intestino grueso.

Foto 2. Congestión en intestino delgado.



Histológicamente se pudo constatar en hígado trombos en venas centrolobulillares y

moderada a severa congestión (Foto 3); en corteza renal se observaron glomerulos severamente congestivos, algunos necróticos y hemorrágicos; en pulmón se observó edema interalveolar y enfisema peribronquiolar; bazo congestivo y hemorrágico y en corazón fibras miocárdicas hipertrofiadas. En SNC se observó severa congestión, hemorragias y edema perivascular principalmente en óbex, tálamo y cerebelo (Foto 4).

Foto 3. Hígado con congestión moderada.

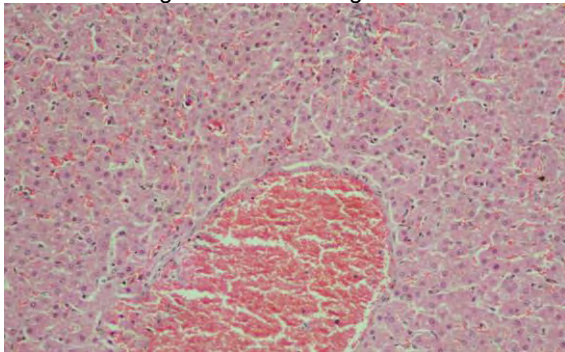
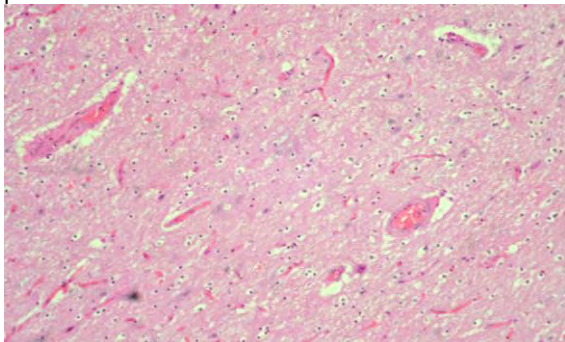


Foto 4. SNC. Obex. Congestión y edema perivascular.



La identificación botánica confirmó que los arbustos cosechados eran *Colliguaja integerrima*. Plantas de *Colliguaja* presentes en el corral tenían signos evidentes de haber sido consumidas por los animales (Foto 5).

Foto 5. *Colliguaja integerrima* en floración y plantas con signos de ser consumidas.



Discusión

Si bien no se logró establecer un diagnóstico definitivo, los resultados obtenidos permiten orientar el diagnóstico a una intoxicación por consumo de *Colliguaja integerrima*. Es escasa la información sobre la toxicidad de dicha especie. Ragonese y col.² la nombran como planta tóxica para el ganado que la consume y Gallo³ reprodujo experimentalmente la intoxicación en ovinos e imputa como principios tóxicos al látex y sus saponinas. Estudios más recientes han determinado la presencia de sustancias triterpénicas, delphinidina, pelargonidina y flavonoides⁴. Tanto los signos clínicos como los hallazgos macroscópicos, coinciden con lo reportado por Gallo³. En esa ocasión los órganos no se evaluaron microscópicamente, faltando de esta forma información precisa de las lesiones a nivel tisular. Nuestros hallazgos histopatológicos se correlacionan con las lesiones macroscópicas encontradas en este caso y descritas por Gallo³, estableciendo como la principal alteración un trastorno de índole circulatorio sistémico expresado por la severa congestión y edema observada en hígado, bazo, pulmón, riñón y SNC. Siendo una planta nativa y que se encuentra ampliamente distribuida en la región Patagónica, amerita la ejecución de futuros trabajos para caracterizar el cuadro completo de la enfermedad e intentar la reproducción experimental de la intoxicación.

Bibliografía

- Gallo, GG. 1958. Acción tóxica de *Colliguaja integerrima* sobre ovinos y caprinos de nuestra Patagonia. Revista Veterinaria Militar, 6: 29-30.
- Pinto Vitorino G, Toledo IB, Córdoba OL, Flores ML, Cabrera JL. 2004. Análisis fitoquímico de *Colliguaja integerrima* (Hook.)
- Gill. et Hook. (Euphorbiaceae), una planta de la Patagonia, Argentina. Acta Farmacéutica Bonaerense, 23: 459-465.

INTOXICACIÓN POR *Baccharis coridifolia* DC (“ROMERILLO”) EN CORDEROS DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES

Álvarez, I.¹, Zeinsteger, P.², Rial, C.¹, Llada, J.¹, Sicalo Gianecchini, L.¹; Dorsch, M.¹, Cantón, G.¹
¹INTA EEA Balcarce; ²Universidad Nacional de La Plata

Introducción

Baccharis coridifolia (“Romerillo” o “Mio-Mio”) es una especie vegetal que alcanza entre 20 cm y 80 cm de altura, presenta numerosas hojas lineales, sésiles de 2.0 – 2.5 cm de largo por 1.0 – 2.5 cm de ancho aparentemente enteras pero provistas de dientes, florece y fructifica en verano.

El romerillo es tóxico en rumiantes y equinos a través de la absorción de una toxina por la raíz. Esta toxina (que pertenece al grupo de los tricotecnos macrocíclicos), es producida por un hongo del género del *Myrothecium* que se desarrolla sobre el suelo. El romerillo mantiene su toxicidad aún estando seco por lo que puede suponerse que podría causar mortandad cuando se utilizan henos en los cuales se encuentre presente. *B. coridifolia*, cuando es ingerida produce graves lesiones en el tracto gastrointestinal, pudiendo ocasionarles la muerte en forma aguda.

Este trabajo describe una presunta intoxicación por *B. coridifolia* en una majada de ovinos Pampinta de la provincia de Buenos Aires.

Materiales y Métodos

El brote ocurrió en un establecimiento ubicado en el partido de Balcarce, provincia de Buenos Aires en octubre del 2017. En el transcurso de 7 días murieron 10 corderos de una majada conformada por 300 individuos. Los mismos tenían entre 30 y 40 días de vida y se encontraban junto a sus madres en un lote de raigrás ubicado en la base de un cerro.

Profesionales del Servicio de Diagnóstico Veterinario Especializado (SDVE) del INTA Balcarce realizaron una visita al establecimiento, donde se procedió a revisar clínicamente animales afectados y realizar la eutanasia y necropsia de uno de ellos.

Durante la necropsia se realizó la toma de muestras para estudios histopatológicos. Además se recolectó contenido ruminal para realizar microanálisis para identificación de especies botánicas tóxicas (en los laboratorios de la Universidad Nacional de La Plata).

Resultados

Durante la visita se corroboró una alta concentración de *B. coridifolia* en el potrero donde los corderos junto a sus madres pastoreaban (Foto 1). En el examen clínico de uno de los corderos afectados se registró una frecuencia cardíaca de 128 latidos/minuto,

mientras que la temperatura corporal era de 38,5°C. Además, se observó distensión marcada del hemiabdomen izquierdo, bruxismo, taquipnea, disnea, anorexia, presencia de espuma de color verde en la boca, y finalmente, la muerte en menos de 24 hs. Durante la necropsia se observó congestión difusa de la mucosa ruminal (Foto 2), con desprendimiento del epitelio. Los intestinos se encontraban levemente dilatados con un contenido líquido en su interior. Microscópicamente se observó una ruminitis necrotizante difusa severa (Foto 3), abomasitis linfocítica moderada, esplenitis hemorrágica multifocal y colitis. El pulmón presentó congestión severa con vasculitis linfocítica. Se confirmó consumo de *B. coridifolia* por presencia en contenido ruminal (Foto 4).

Discusión

Los signos observados en una intoxicación son decaimiento, salivación abundante, diarrea sanguinolenta, muerte en 24 horas, intensa congestión o hemorragia del aparato digestivo y con frecuencia, congestión pulmonar, similares a los descritos en estos corderos afectados. Los hallazgos patológicos descritos en el cordero necropsiado fueron compatibles con esta gastroenteritis tóxica, y se confirmó el consumo de la especie vegetal.

Si bien la intoxicación con romerillo está ampliamente diagnosticada en bovinos de la región, no existen reportes previos de intoxicación natural en ovinos. Para prevenir la toxicidad hay que evitar el acceso de animales a los sectores con vegetación arbustiva baja la que crece con frecuencia el romerillo. Si bien se cita como efectivo, carece de una comprobación directa la utilidad del ahumado de los animales con romerillo como método para evitar su ingestión.

Los tratamientos sobre esta maleza, por crecer en lugares de difícil acceso, se deben realizar planta por planta. El herbicida 2-4 D, mojando a punto de goteo y en dilución en agua a razón de 1.2 kg ia/100 litros, puede controlar a esta especie. Para que el control sea efectivo se deben realizar nuevas aplicaciones sobre los rebrotes (2 - 3 como mínimo).

Foto 1. *Baccharis coridifolia* en la base del cerro donde los ovinos intoxicados pastoreaban, al revisarse luego de haber diagnosticado la intoxicación.



Foto 2. Congestión de mucosa ruminal detectada a la necropsia del cordero necropsiado.

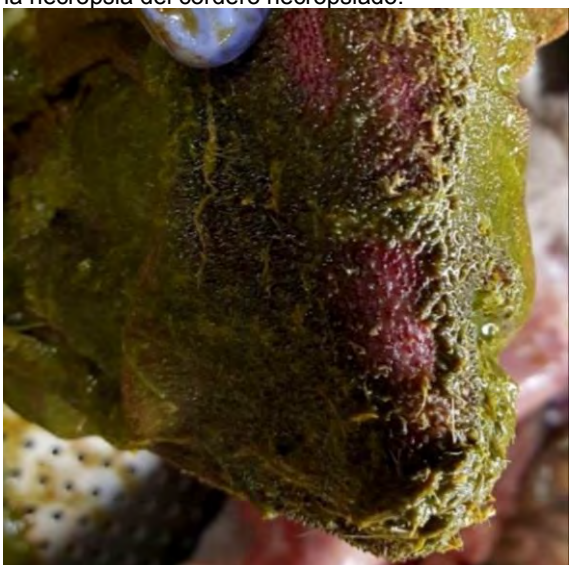


Foto 3. Ruminitis necrotizante difusa severa detectada en el análisis histopatológico de muestras recolectadas del cordero necropsiado (HE, 40×).

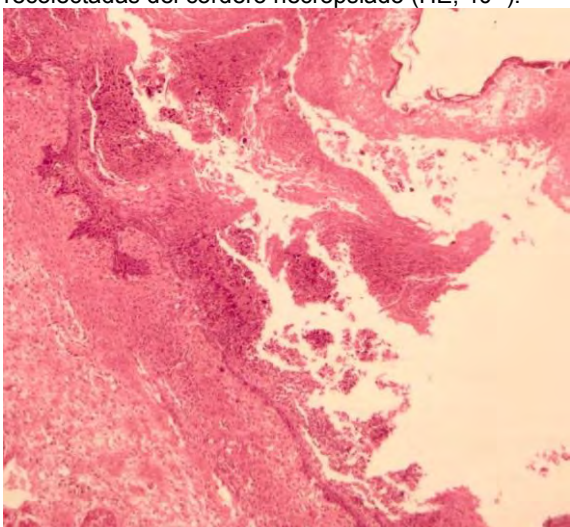
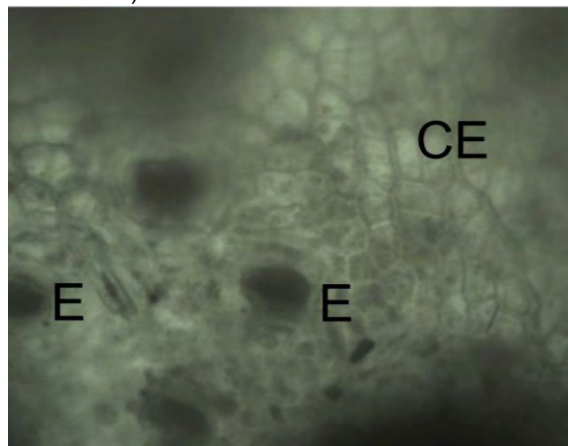


Foto 4. *Baccharis coridifolia* en contenido ruminal: se observan células epidérmicas (CE) y estomas (E) (40×) (análisis realizado en la Universidad Nacional de La Plata)



Conclusión

La presencia de *B. coridifolia* debe ser considerada al ingresar animales a un potrero, especialmente en categorías que no están familiarizadas con esta especie y en las zonas serranas de la provincia de Buenos Aires, donde suele encontrarse habitualmente.

Bibliografía

- Alvarez, I.; Zeinsteger, P.; Rial, C.; Llada, I.; Sicalo Gianecchini, L.; Dorsch, M.; Cantón, G. 2017. Intoxicación por *Baccharis coridifolia* DC ("Romerillo", Asteraceae) en corderos de la provincia de Buenos Aires: descripción de un caso clínico. 1º Congreso Regional de Toxicología Veterinaria. Montevideo, Uruguay.
- García, J.; Cantón, G.; García, B.; Micheloud, J.; Campero, C.; Späth, E.; Odriozola, E. 2017. Retrospective analysis of bovine poisoning after plant and other compounds consumption in Argentina (2000-2013). *Pesq Vet Brasil* 37:210-214.
- Habermehl, G.; Busam, L.; Heydel, P.; Mebs, D.; Tokarnia, C.; Döbereiner, J.; Spraul, M. 1985. Macrocyclic trichothecenes: cause of livestock poisoning by the Brazilian plant *Baccharis coridifolia*. *Toxicon* 23:731-745.
- Lértora, W.; Negrette, M. 2015. *Baccharis coridifolia* poisoning in water buffalo (*Bubalus bubalis*) in the North of the province of Corrientes, Argentina. *Braz J Vet Pathol* 8:1-5.
- Rozza, D.B., Raymundo, D.L., Correa, A.M.; Leal, J.; Seitz, A.; Driemeier, D.; Colodel, E. 2006. Intoxicação espontânea por *Baccharis coridifolia* (Compositae) em ovinos. *Pesq. Vet. Bras* 26(1):21-25.
- Ruiz, F. 1930. Tres plantas tóxicas de la flora Argentina. *Bol. Minist. Agric. Nac. Rep. Argentina* 29: 45-55.
- Varaschin, M.; Alessi, A. 2003. Poisoning of mice by *Baccharis coridifolia*: an experimental model. *Vet Hum Toxicol* 45:42-44.

INTOXICACIÓN EXPERIMENTAL CON *Asclepias mellodora* (“YERBA DE LA VÍBORA”) EN OVINOS

Lauge, M.¹; De Otazúa, O.¹; *Cantón, G.¹; Moore, P.¹⁻²; Odriozola, E.¹
¹INTA EEA Balcarce. ²CONICET

Introducción

El diagnóstico de las intoxicaciones en los animales de producción suele ser dificultoso para los veterinarios de la actividad privada. Si bien se sospecha que muchas especies vegetales tienen un potencial tóxico para estos, varias aún permanecen sin una confirmación de su potencial toxicidad.

Asclepias mellodora es una planta presente en Argentina que puede afectar tanto a rumiantes como monogástricos produciendo efectos en diferentes sistemas. En Argentina, *A. mellodora* St. Hilare, es conocida vulgarmente como “yerba de la víbora” o “mboy caá”. Es propia de campos ganaderos y suelos arenosos húmedos, también se la halla en suelos arcillosos y secos. Su distribución en Sudamérica es amplia llegando desde el sur de Brasil, Uruguay, hasta norte y centro de Argentina.

Las investigaciones que se han llevado a cabo para caracterizar a los compuestos tóxicos de las *Asclepias* han permitido determinar que éstos son de tres tipos (glucósidos cardiotónicos, resinoides y alcaloides), pero ellos no están necesariamente presentes en forma simultánea en todas las *Asclepias* tóxicas. Sin embargo hasta el presente estos compuestos no han sido totalmente identificados en cada especie en particular.

Teniendo en cuenta la diversidad en las presentaciones de cuadros de intoxicación con *Asclepias* que cita la bibliografía internacional y la nula información que existe en el país con respecto a la toxicidad de esta planta se decidió realizar la intoxicación experimental en ovinos para caracterizar la toxicidad de distintas dosis, evolución de la signología clínica y hallazgos macro y microscópicas.

Materiales y Métodos

Se recolectaron plantas de *A. mellodora*, se secó en estufa a 60°C durante 72 hs, se molió con una malla de 2 mm de diámetro. Se utilizaron 14 ovejas raza Frisona de entre 45 y 62 KgPV de entre 3 y 4 años de edad, clínicamente sanas. Fueron divididos en 5 grupos: **Grupo 1**, dosificado con 8 gr MS/kg PV, **Grupo 2**, 5 gr MS/kg PV; **Grupo 3**, 2 gr MS/kg PV y **Grupo 4**, 0,8gr MS/kg PV. El **Grupo 5** permaneció como control negativo. La administración se realizó por ingestión forzada mediante una sonda bucoesofágica administrando, intraruminalmente, el material disuelto en agua.

Los animales fueron mantenidos en un predio cerrado para poder realizar un mejor seguimiento y se les suministró heno y agua *ad libitum*.

Durante el transcurso del ensayo se realizó un seguimiento clínico de todos los animales evaluándose la frecuencia respiratoria, mediante la observación de los movimientos de la parrilla costal del animal, el comportamiento y la temperatura corporal.

A los animales de los grupos 1, 2 y 3 que murieron producto de la intoxicación, y a los del grupo 4, que fueron eutanasiados al séptimo día post intoxicación, se les realizó necropsia. Se tomaron muestras de órganos que fueron fijadas en formol al 10%, luego se procesaron en forma rutinaria para realizar su observación microscópica.

Resultados

Los animales del Grupo 1 murieron entre las 10 y 18 hs. de la administración. Uno de ellos manifestó depresión, debilidad y dificultad para caminar, anorexia, ptialismo, respiración abdominal dificultosa, con 45 movimientos respiratorios por minuto (MRM). Los animales del Grupo 2 presentaron signos a las 12 hs post administración, con marcada depresión, debilidad, postración y diarrea muy líquida, anorexia, respiración abdominal marcada y dificultosa. La frecuencia respiratoria se encontraba entre los 51 y 83 MRM, en uno de los animales una vez postrado, llegó a 140 MRM. Los animales murieron entre las 22 y las 35 hs post administración. Los ovinos del Grupo 3 a las 12 hs de la administración se encontraban con buena respuesta a los estímulos, diarrea, anorexia, respiración irregular, y con una frecuencia respiratoria de entre 51 y 87 MRM, hubo animales con 130 MRM. La muerte de ellos se produjo entre las 46 y 85 hs luego de la administración. Los animales del Grupo 4 presentaron diarrea leve, anorexia y depresión leve. Al 7° día post administración fueron sacrificados al igual que los del Grupo 5 control.

Tanto los animales intoxicados como los controles no presentaron variaciones anormales en la temperatura corporal durante el período que se los evaluó.

Todos los animales de los Grupos tratados presentaron congestión en abomaso, intestino (en diferentes porciones), hígado, corazón, tráquea, bronquios, pulmones, bazo, riñones, páncreas y sistema nervioso central.

En el análisis histopatológico se observó congestión y hemorragia en sistema nervioso central, edema, enfisema y hemorragia intersticial en pulmón, atelectasia e infiltrado inflamatorio peribronquiolar. En mucosa traqueal se observó infiltrado mononuclear leve a moderado; hemorragia interfibrilar en miocardio; congestión y hemorragia renal; congestión esplénica; infiltrado inflamatorio leve en lámina propia de abomaso; congestión e infiltrado inflamatorio mononuclear moderado entre criptas intestinales. En los animales del Grupo control no se observaron lesiones de relevancia.

Foto 1. *Asclepias mellodora*.



Discusión

Se comprobó la toxicidad de *A. mellodora* en ovinos, a las diferentes dosis evaluadas en condiciones similares a las descritas previamente para otras especies de *Asclepias*. En el presente ensayo se produjo la muerte con una dosis equivalente al 0,2% del peso corporal de MS de plantas de *A. mellodora*, lo que indicaría una mayor toxicidad de esta especie. Los signos clínicos observados, coinciden con lo expresado por otros autores, al igual que el momento de presentación.

El tiempo transcurrido entre el consumo y el comienzo de los signos, y la muerte fue mayor a medida que disminuyó la dosis de intoxicación. La gravedad de los hallazgos de necropsia fue mayor a medida que aumentó la dosis administrada.

Estos resultados sugieren que los animales, que no consumen dosis letales, se recuperan rápidamente luego de un tiempo.

La presentación de lesiones a la necropsia varió dependiendo de la dosis utilizada. En el análisis patológico, no se observó un cuadro patognomónico que pueda permitir definir el diagnóstico.

Conclusiones

Este estudio permite concluir que *A. mellodora* debe ser considerada de gran potencial tóxico dentro de las plantas tóxicas presentes en nuestro país, aunque se debe tener en cuenta que existe rechazo al consumo por parte de los animales por lo cual su importancia queda limitada a ciertas condiciones como pastoreo con altas cargas, penuria nutricional, o el uso de heno con presencia de la planta.

De la misma manera, se deberían revisar los potreros destinados al pastoreo por estas especies, para tratar de investigar la presencia de vegetales tóxicos, que podrían llegar a provocar cuadros similares.

Bibliografía

- Gallo, G. 1979. Plantas tóxicas para el ganado en el Cono Sur de América. Editorial Universitaria de Bs. As. 60-62.
- Hubinger Tokarnia, C.; Brito, M.; Cunha, B. 2001. Intoxicação experimental por *Asclepias curassavica* (Asclepiadaceae) em bovinos. Pesq Vet Bras 21:1-4.

INTOXICACIÓN EXPERIMENTAL CON *Galega officinalis* EN OVINOS

De Otazúa, O.¹; Lauge, M.¹; *Cantón, G.¹; Bengolea, A.²; Moore, P.¹⁻³; Odriozola, E.¹
¹INTA EEA Balcarce; ²INTA EEA San Luis; ³CONICET

Introducción

Galega officinalis es una leguminosa conocida como “alfalfa inglesa”, “alfalfa gallega” o “galega”, naturalizada en Argentina. Crece en suelos fértiles, bajos y húmedos. Se ha indicado como tóxica por la presencia de toxinas: alcaloides (galeguina, hidroxigalegina y peganina); aminoácidos (canavanina) y flavonoides (galuteolina, saponinas y taninos). Aunque ha sido usada como forrajera es poco palatable y rechazada por el ganado, especialmente al madurar. Por esto las intoxicaciones se producen en períodos de sequía o ayunos prolongados y cuando es la única fuente de alimento, o bien cuando está presente en heno, ensilados y cortapicados. Provoca intoxicaciones principalmente en ovinos con insuficiencia respiratoria aguda, rápidamente mortal, sin presentación de tipo crónica.

Teniendo en cuenta la ausencia de antecedentes locales de intoxicación con *G. officinalis*, el objetivo fue reproducir experimentalmente su toxicidad con la planta en diferentes estadios morfológicos, establecer la dosis tóxica y describir la signología clínica y parámetros bioquímicos en ovinos intoxicados.

Materiales y Métodos

Se realizaron 2 experimentos, uno con *G. officinalis* en estado vegetativo (Experimento 1, foto 1) y otro con *G. officinalis* en estado reproductivo (Experimento 2, foto 2). En cada experimento se utilizaron 8 ovejas Corriedale adultas: 2 no fueron intoxicadas (grupo control), mientras que las restantes fueron divididas en 3 grupos tratados de 2 animales cada uno recibiendo 0,3; 0,7 y 1,0% del peso vivo de *G. officinalis* seca y molida mediante sonda buco-esofágica. Durante el ensayo los animales se mantuvieron en predios cerrados y se les ofreció heno de pasturas *ad libitum* y agua.

Los animales se revisaron clínica cada hora hasta las 72hs post dosificación.

Se extrajeron muestras de sangre para evaluar funcionalidad hepática: actividad de la enzima glutámico oxalacético transaminasa (GOT/AST) y gamma-glutamil transferasa (gGT). Para evaluar funcionalidad renal se evaluó actividad de creatinina.

A las 48 h post dosificación se eutanasió un animal que había recibido 1,0% de *G. officinalis* (Exp. 1). Se tomaron muestras de tejidos en formol al 10%, para examen histopatológico

En el Exp. 2, a los animales que murieron espontáneamente se les realizó la necropsia. Los que no presentaron signología fueron eutanasiados a las 48hs post dosificación.

Foto 1. *G. officinalis* en estado vegetativo.



Foto 2. *G. officinalis* en estado reproductivo.



Resultados

Tanto los animales controles como los tratados en el **Exp. 1** no manifestaron signología clínica. La actividad de creatinina, GOT y gGT se encontró normal. No se observaron lesiones de relevancia a la necropsia ni a la histopatología. Durante el **Exp. 2**, los animales control y tratados presentaron temperatura normal. Los 2 animales dosificados con 0,3% y uno dosificado con 0,7% de *G. officinalis* no presentaron signología clínica. El otro animal dosificado con 0,7% presentó taquipnea y depresión leve a las 19 hs post-dosificación (pd) y murió 3 h después con salida de espuma por ollares. Una de las ovejas dosificada con 1,0% presentó taquipnea leve, disnea y depresión a las 18 hs pd; murió a las 2 h de comenzados los signos. La otra oveja del mismo grupo no presentó signología. La actividad de creatinina, GOT y gGT de todos los animales del Exp. 2 estuvo dentro de los parámetros normales.

A la necropsia de los animales del grupo control no se observaron lesiones. Los animales dosificados con 0,3% y uno que recibió 0,7% no presentaron lesiones. La oveja que había recibido 0,7% y que manifestó signología leve presentaba hidrotórax (800 cm³ de líquido claro, ambarino y espumoso), edema de mediastino y abundante espuma blanca en tráquea y bronquios. Los pulmones estaban congestivos y edematosos, escurrían líquido a la compresión. Los linfonódulos preescapulares estaban congestivos y edematosos. Los riñones estaban congestivos. El rumen estaba timpanizado y con la mucosa congestiva.

Los animales que recibieron 1,0% presentaron severo hidrotórax, hasta 1700 cm³ de líquido claro, ambarino, que formaba coágulos, y edema en mediastino. Los pulmones no colapsaban, estaban pesados con severa congestión y edema interlobular en todo el parénquima. Los bronquios contenían espuma blanca. También se observaba abundante líquido en saco pericárdico. Los riñones estaban congestivos, al igual que los linfonódulos preescapulares. El resto de los órganos no presentaban lesiones macroscópicas.

Durante el análisis histopatológico de diferentes animales se corroboró infiltrado no supurativo multifocal de distinta severidad en pulmón, hígado, miocardio, y mucosa ruminal, abomasal e intestinal. También se registraron diferentes grados de edema, congestión y hemorragia en esas mismas localizaciones. El resto de los tejidos no presentaban alteraciones.

Discusión

Se corroboró la toxicidad de *G. officinalis* en ovinos. Coincidiendo con lo citado por otros, ésta fue más importante cuando la planta estaba en estado de floración y fructificación temprana. Los resultados clínicos también coinciden con lo expresado por otros autores,

quienes observaron que la signología comienza entre las 18-24 hs de consumida la planta. También coinciden los signos clínicos y la muerte sobreviene antes de las 4 horas de comenzados los signos. Los hallazgos de necropsia e histopatológicos también fueron coincidentes con los citados por la bibliografía consultada. Los parámetros bioquímicos evaluados se mantuvieron dentro de los rangos normales para esta especie, por lo que se podría descartar un efecto de las toxinas encontradas en esta especie a nivel hepático y renal.

Se pudo confirmar lo expuesto por otros autores en cuanto a la variable susceptibilidad individual de las ovejas a los efectos tóxicos de la galeguina.

Conclusiones

Podemos concluir que la dosis letal para ovinos podría estimarse en 0,7% del peso corporal de MS de *G. officinalis* en floración, dependiendo de la susceptibilidad individual de los animales afectados. *G. officinalis* debería ser considerada potencialmente tóxica cuando se encuentra en floración temprana o fructificación. También debería recordarse que los animales normalmente la rechazan por lo cual la implicancia de su consumo queda solo limitada a ciertas condiciones de manejo intensivo, o en situaciones de sequía, en las que el animal se ve obligado a consumirla.

Bibliografía

- Keller, R.; Baker, D.; Evans, J. 1988. Individual animal susceptibility and its relationship to induced adaptation or tolerance in sheep to *Galega officinalis* L. *Vet Hum Tox* 30:420-423.
- Puyt, J.; Faliu, L.; Gedfrain, J.; Pinault, L.; Tainturier, D. 1981. Fatal poisoning of sheep by *Galega officinalis* (French honeysuckle). *Vet Hum Tox* 23:410-412.

CALCINOSIS ENZOÓTICA EN CAPRINOS DE ARGENTINA POR PRESUNTA INTOXICACIÓN CON *Solanum stuckertii* BITTER

Rossanigo C.E.¹; Rey J.P.²; Celi Preti J.M.²; Rodriguez C. G.³ y Page W.¹

¹INTA EEA San Luis. ²Área Prod. Animal Ministerio del Campo, Gob de San Luis; ³Actividad Privada.

Introducción

La calcinosis enzootica (CE) ha sido descrita en diversas regiones del mundo causado por una intoxicación vegetal crónica con plantas calcinogénicas de la familia *Solanaceae*. En bovinos de Argentina la intoxicación se la conoce comúnmente como “enteque seco”, producida por la intoxicación de *Solanum malacoxylon* o *glaucophyllum* (vulgarmente como “duraznillo blanco”). Estas plantas tienen distintos metabolitos de la vitamina D (el 1,25-dihidroxitamina D3 (1,25 (OH)₂ D₃) o calcitriol, que aumenta la absorción intestinal de calcio (Ca). En caprinos ha sido recientemente diagnosticada en cabras de la provincia de San Luis (Argentina) afectando a animales en pastoreo de zonas serranas. En ambos casos la deposición de sales de calcio en tejidos blandos, se acompaña de un severo deterioro físico y problemas articulares. Esta comunicación tiene el propósito de aportar las observaciones realizadas en un caso clínico en cabras de San Luis con la identificación del presunto vegetal calcinogénico.

Materiales y Métodos

El caso se presentó en un establecimiento caprino localizado en la Quebrada de San Vicente (Departamento San Martín) (latitud s 52° 23' y longitud oeste 23° 12'). El sistema era extensivo sobre pastizal natural serrano y monte, con una majada compuesta de 60 cabras y 3 machos base criolla-Anglo Nubian. Durante el 2016 se presentaron cabras con sintomatología típica de calcinosis con una morbilidad del 17% y 100% de mortalidad y con el antecedente que consumían huesos.

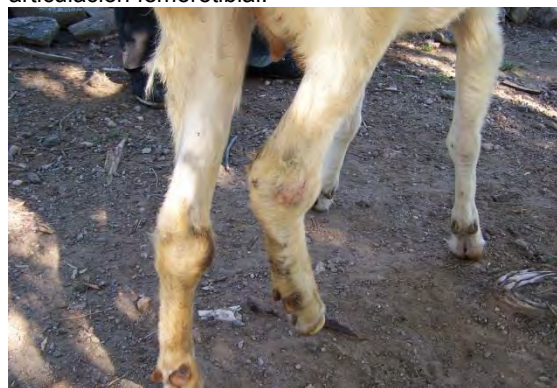
Resultados

En la visita al establecimiento se detectó una cabra clínicamente afectada con dificultades en la locomoción con pasos rígidos y cortos en distancias muy cortas, con un avanzado estado de caquexia, pobre condición corporal, con deformaciones duras y depilación de la articulación femorotibial derecha y atrofia muscular del miembro. A la necropsia se observó calcificaciones extensas de los lóbulos apicales y cardíacos de ambos pulmones, en los tendones y ligamentos de la articulación femorotibial y en grandes vasos (aorta ascendente y arco aórtico, aorta descendente torácica y abdominal, carótidas, arterias

mesentéricas e ilíacas). La superficie endotelial de todas estas arterias se presentaba rugosa y áspera. Los demás órganos sin lesiones aparentes. Se extrajo sangre del animal enfermo y se tomaron muestras de tejidos afectados para la realización de cortes histológicos.

Las lesiones histológicas de las arterias afectadas mostraban calcificaciones en la capa media y proliferación conjuntiva subendotelial. En pulmones se hallaron depósitos de calcio en forma de pequeños gránulos sobre las fibras elásticas y tabiques interalveolares. La determinación del Ca sérico reveló un valor de 18,4 mg/% (rango de referencia 8 a 11,5 mg/%). La recolección de plantas presentes al costado de arroyos y vertientes permitió identificar ejemplares del género *Solanum stuckertii* Bitter como posible agente etiológico de esta enfermedad.

Calcificaciones de tendones y ligamentos de la articulación femorotibial.



Calcificaciones de los lóbulos pulmonares apicales y cardíacos.



Extensas calcificaciones en la superficie endotelial de grandes vasos.



Superficie endotelial de la aorta torácica descendente con calcificaciones.



Depósitos de calcio en el pulmón (A) y las arterias (B).



Ejemplar de *Solanum stuckertii* Bitter.



Conclusión

La clínica, las lesiones, la hipercalcemia y los hallazgos de laboratorio permiten concluir que se trata de un caso de CE. Este nuevo reporte se suma a otras comunicaciones previas que demuestran que la enfermedad está presente en los sistemas reales serranos de la ganadería caprina del bosque serrano del norte de la provincia donde en zonas inundables a la orilla de arroyos es común encontrar plantas de *Solanum stuckertii* Berti. La reproducción experimental de la enfermedad proporcionará más evidencia sobre la asociación de esta planta con las características clínicas y patológicas observadas

Bibliografía

- Iglesias V.J.; Costa E.F.; Gimeno E.J. 2008. Calcinosis enzoótica en caprinos de la Provincia de San Luis. Revista Argentina de Producción Animal 28, Supl., 333-334.
- Gimeno, E.J. 2001. Calcinosis enzoótica en rumiantes: Un problema vigente de la ganadería nacional. Anales de la Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria LIV, 202-234. Disponible en: http://www.anav.org.ar/trabajos_publicados/8/gimeno.pdf
- Rodríguez M.; Rey J. P.; Iglesias V.; Costa E. F.; Gimeno E. J. (2013). Nuevos aportes referidos a la Calcinosis Enzoótica en caprinos en la provincia de San Luis. Memorias Primer Congreso Argentino de Producción Caprina. La Rioja (Arg.): 387-391.

INTOXICACIÓN CRÓNICA PRIMARIA POR COBRE EN UN CARNERO MERINO EN LA PROVINCIA DE SANTA CRUZ, ARGENTINA

Aguilar, M.¹; Robles, C. A.²

¹Agencia de Extensión Rural, INTA San Julián; ²Grupo de Salud Animal, INTA Bariloche

Introducción y Antecedentes

La cría ovina extensiva es la principal actividad ganadera en la Provincia de Santa Cruz. Sin embargo, algunos productores manejan a determinadas categorías, en forma más intensiva con el propósito de mejorar el desarrollo y condición corporal de los reproductores previo al servicio o que serán enviados a venta.

A comienzos del 2010, en un establecimiento ovejero ubicado en la Meseta Central de la provincia de Santa Cruz, se presenta un carnero de raza Merino con dificultad para caminar, emisión de orina color rojiza e ictericia marcada. El animal formaba parte de un lote de cuatro carneros de cabaña que estaban estabulados desde hacía un año, siendo su alimentación a base de heno de alfalfa, alimento balanceado formulado para ovinos con 14% de proteína y bloque de sal ad-líbitum como suplemento mineral conteniendo principalmente Calcio, Fósforo y Oligoelementos. Los 4 animales a su ingreso a la estabulación habían sido desparasitados con un endectocida (ivermectina 3,15%), vacunados contra enfermedades clostridiales, y suplementados al inicio de la primavera con un vitamínico conteniendo AD3E (1 ml por animal vía intramuscular).

A fin de determinar la causa de la enfermedad, se realizó un estudio sobre dicho animal, tomándose un animal sano del mismo lote, como testigo.

Materiales y Métodos

Se visitó el establecimiento problema, donde se procedió a realizar la anamnesis del caso y a revisar clínicamente el animal enfermo y animales sanos del lote.

Al animal afectado y a uno sano que se eligió al azar se les tomó la temperatura corporal y se les extrajo sangre sin anticoagulante para la obtención de suero sanguíneo que fue conservado a -20°C hasta el momento de su procesamiento. En suero se midieron las concentraciones de GOT, GGT, CPK y cobre.

A los 12 días de iniciados los síntomas en el animal enfermo, se procedió al sacrificio del mismo y se realizó la necropsia. Se tomaron muestras de hígado, riñón, bazo, pulmón y cerebro que se fijaron en formol buferado al 10%, para estudios histopatológicos. Las muestras fijadas se incluyeron en parafina, se

cortaron a 5 µm y se tiñeron con Hematoxilina y Eosina.

Finalmente se tomaron muestras de hígado y riñón, del alimento balanceado y del suplemento mineral para dosaje de cobre.

Resultados

A la revisión clínica del animal afectado se observaron signos de debilidad, dificultad para caminar, ictericia severa visible en conjuntiva ocular (Foto 1) en mucosas y piel y disminución del tono y del tamaño testicular. El resto de los animales del lote estaban clínicamente normales. La temperatura rectal del animal enfermo al inicio de los síntomas y del sano seleccionado como control fue de 39 y 39,1°C respectivamente

Foto 1. Ictericia ocular notable.



A la necropsia, además de ictericia generalizada en todo el cuerpo, se observó hepatomegalia y un tinte amarillento del órgano, colecta sanguinolenta en cavidad abdominal, riñones edematizados, aumentados de volumen y de color muy oscuro (Foto 2).

Foto 2. Aspecto y color oscuro de los riñones.



En la Tabla 1 pueden observarse los resultados de los análisis bioquímicos realizados sobre las muestras de sangre extraídas del animal afectado y del animal clínicamente sano tomado como testigo.

Tabla 1. Resultados de los análisis bioquímicos en suero y tejidos del animal enfermo y el testigo sin sintomatología.

	Animal Testigo	Animal enfermo	Valores normales de ref.
Cobre en suero ug/ml	0,93	2,71	0,6 – 1,5
GOT UI/l	966	1907	32-97
GGT UI/l	294	247	0 - 32
CPK UI/l	101,51	453,36	0 - 200

En la Tabla 2 pueden observarse los valores de cobre en tejidos del carnero enfermo, del alimento balanceado y del suplemento mineral que consumía el animal y valores de referencia extraídos de la bibliografía.

Tabla 2. Resultados de los análisis bioquímicos en tejidos del animal enfermo, alimento balanceado y suplemento mineral consumido, y valores de referencia

	Valores de cobre hallados	Valores de referencia (Ribeiro 2011)	Valores considerados tóxicos (Ribeiro 2011)
Hígado	1262,5 ppm	3-300 ppm	1000-3000 ppm
Riñón	337 ppm	50 ppm	>100 ppm
Alimento Balanceado	19,2 ppm	4-6 ppm	>12 ppm
Suplemento Mineral	300 ppm	4-6 ppm	>12 ppm

El cuadro histopatológico se caracterizó a nivel de hígado por edema generalizado, presencia de hepatocitos en diferente grado de degeneración, vacuolación y necrosis principalmente a nivel centrolobulillar. Manifiesta presencia de un material color ocre amarillento libre en sinusoides y también englobado dentro de células de Kupffer. En riñón se observaron túbulos dilatados y en muchos casos con un pigmento en su interior de las mismas características que el detectado en hígado. A nivel de glomérulo se observó

engrosamiento de la pared y dilatación de la cápsula de Bowman con presencia de una sustancia proteínica en su interior. El bazo se encontraba congestivo con presencia abundante de pigmento ocre amarillento. En pulmón y cerebro solo se observó edema.

Discusión

Los hallazgos clínicos iniciales hicieron sospechar de una patología hepática. La ausencia de fiebre y de procesos inflamatorios, orientó la búsqueda hacia una intoxicación. Los resultados bioquímicos, principalmente los altos valores de cobre en tejidos y suero y los altos valores de las enzimas, sumado a las lesiones observadas a la necropsia y los hallazgos histopatológicos en hígado y riñón, coinciden con lo descrito para la intoxicación crónica por cobre en ovinos (Lewis *et al.*, 1997; Robles *et al.*, 1993).

El ovino es particularmente muy susceptible/sensible a la intoxicación por cobre (Uzal *et al.*, 1992), considerándose peligrosos niveles que excedan los 12 mg/kg de materia seca de cobre en la ración (Lewis *et al.*, 1997; Radostits y Blood, 1994).

Los resultados obtenidos en el dosaje de cobre en el alimento balanceado que contenía 19.2 ppm, sumado a las 300 ppm que contenía el suplemento mineral, podrían explicar el origen de la intoxicación.

La intoxicación crónica por cobre es una enfermedad de desarrollo lento que puede llevar varios meses. El exceso de cobre que se ingiere con la dieta, se va acumulado en hígado y cuando sobrepasa los 750 ppm/materia seca, induce necrosis centrolobulillar en hígado, liberando súbitamente cobre al torrente sanguíneo, produciendo una crisis hemolítica que precipita los síntomas clínicos y muerte del animal (McCaughey, 2007; Ribeiro, 2011), situación compatible con lo observado en este caso.

Bibliografía

- Lewis, N; Fallah-Rad, A; Connor, L. 1997. Copper toxicity in confinement-housed ram lambs. *Can Vet J* 38: 496-498.
- McCaughey, W.J. (2007) Inorganic and organic poisons. En: *Diseases of sheep*. Ed. by I. D. Aitken. Blackwell Publishing, United Kingdom. 610 páginas.
- Radostits, O.M., Blood, D.C., Gay, C.C. 1994. *Veterinary Medicine*. 8th ed. London (UK): Baillière Tindall. 1763 pag.
- Ribeiro, L.A.O. 2011. *Medicina de Ovinos*. 1ra ed. Porto Alegre, Brasil. 198 pag. ISBN 978-85-62689-26-0.
- Robles, C; Uzal, F; Olaechea, F. 1993. Intoxicación crónica por cobre en ovinos lecheros. *Vet. Arg.* Vol X nº 92. 95-97.
- Uzal, F; Robles, C; Garro, J; Olaechea, F; Arrigo, J; Wolff, M. 1992. Intoxicación aguda por cobre en ovinos. *Vet. Arg.* Vol IX nº 89. 599-603.

INTOXICACIÓN CRÓNICA CON COBRE: PRESENTACIÓN DE UN CASO EN UN CARNERO

Llada, I.¹; Cora, J.¹; Migliavacca, J.¹; Ojeda Feroselle, M.²; Mazzanti, M.¹; Olmos, L.¹; Flores Olivares, C.¹; Drake, M.¹; Fernández, E.¹; Lischinsky, L.¹; *Cantón, G.¹; Odriozola E.¹
⁽¹⁾ INTA EEA Balcarce. ⁽²⁾ INTA EEA Catamarca.

Introducción

El cobre (Cu) es un micronutriente esencial y necesario para numerosos procesos fisiológicos, desempeña un papel importante en la oxidación tisular, ya sea actuando como suplemento de los sistemas citocromo oxidasa, o formando parte de los mismos. La ceruloplasmina es la enzima que contiene el cobre, a través de la cual este metal ejerce su función fisiológica. El Cu cumple un rol fundamental en la respiración tisular, eritropoyesis, formación de tejido conectivo, pigmentación, desarrollo óseo y nervioso, y en el funcionamiento del sistema inmune. El hígado es el reservorio del Cu en el organismo y las concentraciones de Cu en hígado reflejan el estatus de cobre en el animal. Debido a la gran cantidad de funciones y su importancia a nivel productivo y reproductivo, su deficiencia provoca graves pérdidas económicas. Si bien la suplementación se encuentra indicada, esta es una práctica que debe ser supervisada por el profesional veterinario ya que errores en la dosificación podrían resultar en un cuadro grave de intoxicación. Se han descrito dos tipos de presentaciones de intoxicación con Cu: la forma aguda que se presenta en ovinos y bovinos, luego de una sobredosis, y la forma crónica descrita en varias especies. La intoxicación crónica con Cu es una patología frecuentemente reportada en pequeños rumiantes en asociación al consumo de dietas ricas en este micromineral o con baja concentración de molibdeno (Mo) y/o sulfatos (SO₄), antagonistas en su metabolismo, durante un periodo prolongado.

El presente trabajo describe un caso registrado en un carnero Texel de 2 años de edad con hallazgos clínicos-patológicos compatibles con un cuadro de intoxicación crónica por Cu.

Materiales y Métodos

Ocurrió en una majada de 13 carneros de un establecimiento en el partido de Balcarce, provincia de Buenos Aires, Argentina, pastoreando *Avena sativa* y suplementados con heno y ración diaria de alimento balanceado comercial a razón de 300 gramos por animal por día durante los últimos 9 meses. Dos días previo a su muerte, el animal había manifestado depresión, anorexia y se rehusaba a moverse.

Durante la necropsia se recolectaron muestras de tejidos en formol al 10% para realizar análisis histopatológico de rutina, orina para evaluar características físico-químicas e hígado para determinar concentración de Cu mediante digestión ácida y posterior lectura por espectrofotometría de absorción atómica (EAA). Además se realizaron improntas de riñón para determinar la presencia de *Leptospira* spp. por inmunofluorescencia directa (IFD). Se analizaron muestras de sangre de otros carneros de la majada para determinar cupremia y del alimento balanceado para cuantificar Cu mediante EAA.

Resultados

Durante el estudio *post mortem* se observó congestión hepática marcada, riñones de color rojo vinoso con su médula enrojecida (Foto 1). La vejiga estaba plétórica con orina de color rojo oscuro (Foto 2) y sedimento verdoso. Se observaron petequias en epicardio y áreas crateriformes de 0.5 cm de diámetro en la mucosa abomasal de distribución difusa, compatibles con úlceras parasitarias. En el análisis histopatológico se constató una colangitis y hepatitis periportal no supurativa moderada con proliferación de conductillos biliares y fibrosis; en algunos vasos sanguíneos hepáticos se observaron eritrocitos con un precipitado azul intracitoplasmático compatible con cuerpos de Heinz. Además se detectó una glomerulonefrosis tubular aguda, con material proteináceo distorsionando el ovillado glomerular (Foto 3). En la luz de túbulos colectores renales se observó también un material proteináceo similar y un material eosinofílico granular compatible con hemoglobina (Foto 4). La concentración de Cu hepático fue de 1070 ppm (valores de referencia: <50ppm) y la cupremia en otros carneros estaba dentro de parámetros fisiológicos (promedio ± desvío estándar: 0,7±0,1µg/ml, valores de referencia: 0,75-1,35µg/ml). En orina se detectó abundante cantidad de hematíes y reacción positiva a proteínas y hemoglobina. La concentración de Cu en el alimento balanceado fue de 36 ppm, por encima de lo señalado en su marbete (15ppm). La IFD para *Leptospira* spp. resultó negativa.

Discusión

Teniendo en cuenta la signología manifestada, las lesiones macro y microscópicas y la alta concentración de Cu hepático se arribó a un diagnóstico de intoxicación crónica con Cu.

La intoxicación crónica con Cu se da por el consumo de alimentos con elevada concentración de Cu durante semanas a meses que satura el almacenamiento hepático. Ante situaciones estresantes o cuando sobrepasa los 750 ppm/materia seca (en hígado), se desencadena su liberación masiva al torrente sanguíneo, provocando una crisis hemolítica aguda severa. Este cuadro, frecuente en los ovinos en comparación con otras especies de rumiantes, se da porque la vida media de la proteína transportadora de Cu (ceruloplasmina) en sangre es mayor. En aquellos animales consumiendo la misma dieta se debería evitar cualquier factor estresante que permita el desencadenamiento de la fase hemolítica y revertir el aporte dietario respetando la relación Cu:Mo dietaria.

Foto 1. Riñones de coloración oscura con médula enrojecida.

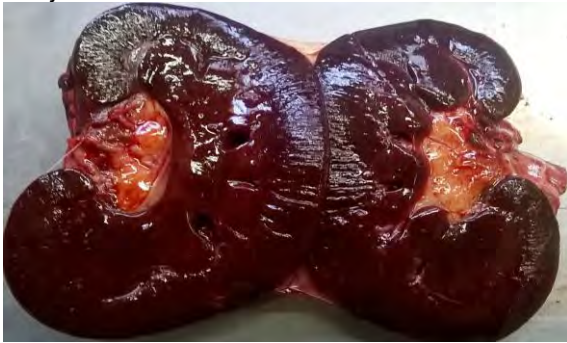


Foto 2. Orina de color rojizo.



Foto 3. Material proteináceo en espacio periglomerular (arriba) y en túbulos renales (abajo).

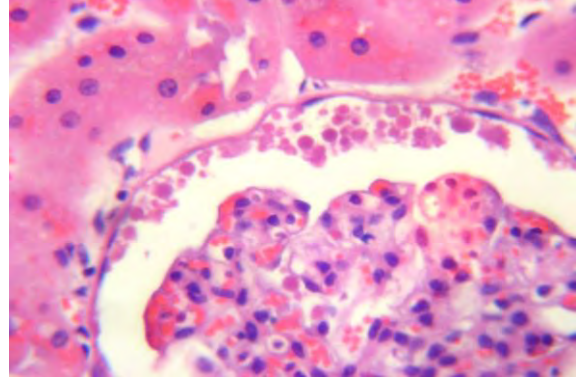
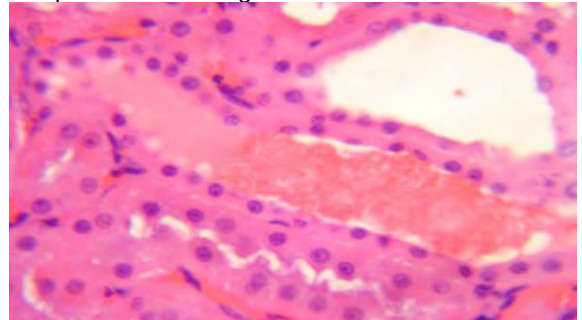


Foto 4. Material proteináceo y eosinofílico granular compatible con hemoglobina en túbulos renales.



Bibliografía

- Aguilar, M. y Robles, C. 2014. Intoxicación crónica primaria por cobre en un carnero Merino en la provincia de Santa Cruz, Argentina. *Vet. Arg* 31, 312.
- Fuentealba, I. 1985. Intoxicación por cobre en ovinos. *Arch Vet Med* 17,69-74.
- Quiroz-Rocha, G. y Bouda, J. 2001. Fisiopatología de las deficiencias de cobre en rumiantes y su diagnóstico. *Vet Mex* 32:289.

QUISTES MANDIBULARES ODONTOGÉNICOS EN OVINOS MERINO DE LA PATAGONIA ARGENTINA

Robles, C.A.¹; Aguilar, M.²; Martínez, A.¹

¹Grupo de Salud Animal, INTA Bariloche; ²Agencia de Extensión Rural, INTA San Julián

Introducción

A partir de un aumento del porcentaje de refugo en ovinos Merino en un establecimiento ganadero cercano a la localidad de San Julián, en provincia de Santa Cruz, por la aparición de una enfermedad caracterizada por la presencia de una masa deformante en el hueso maxilar inferior, se llevó adelante una tarea de investigación diagnóstica del caso a fin de caracterizar el problema, definir la etiología e intentar ofrecer una solución al productor.

Materiales y Métodos

El establecimiento problema, dedicado a la cría de ovinos, está ubicado en la Meseta Central Santacruceña (MCS) en el departamento de Magallanes, provincia de Santa Cruz, Argentina, que se caracteriza por una vegetación de arbustos bajos, escasa cobertura vegetal, suelos con bajos contenidos de materia orgánica y una receptividad promedio de 0,10 a 0,15 Equivalente Ovino Patagónico por hectárea. El establecimiento tenía 11317 ovinos, distribuidos en 10 potreros, en una superficie de 63.071ha. Al momento de la esquila, se revisaron el total de los animales encontrándose 113 ovinos afectados, de los cuales se seleccionaron tres machos adultos y una hembra joven que fueron revisados clínicamente y posteriormente necropsiados. Se tomaron muestras de la pared de los quistes que se conservaron en una solución de formol buferado al 10% para su fijación, tras lo cual fueron embebidas en parafina, cortadas a 5 μ m y teñidas con Hematoxilina y Eosina.

A partir de los hallazgos en este establecimiento en 11 establecimientos de la zona, se recabó información sobre la presencia de la enfermedad en la época de revisión clínica pre-servicio de los carneros.

Resultados

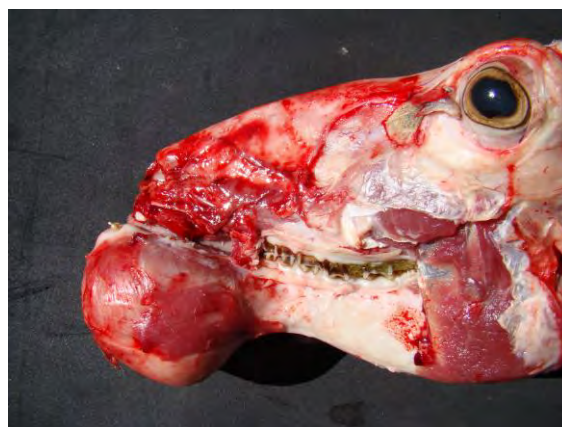
Los 113 animales afectados, representan una prevalencia del 1,1%. El total de los animales afectados eran de raza Merino y estaban pastoreando sobre campo natural, sin recibir suplemento alimenticio.

El mayor porcentaje de afectados correspondió a la categoría capones (2.1%) y la menos afectada a las categorías borregos y borregas (0.1%). Los machos (1.76%) se vieron más afectados que las hembras (0.92%). Los machos tendrían 1,93 ($p=0,0010$) más chances

de enfermar que las hembras y que los adultos tendrían 9,28 ($p=0,0018$) más chances de enfermedad que los jóvenes.

Los animales presentaban un estado de salud normal, en buena condición corporal, estaban vivaces, comían y tomaban agua. En todos ellos se observó una tumoración única de 3 a 12 cm de diámetro ubicada en la unión anterior de ambas ramas del hueso maxilar inferior, generalmente por debajo de los dientes incisivos (Foto 1).

Foto 1. Aspecto del quiste odontogénico.



Al tacto no presentaban dolor. De la información recopilada se pudo saber que los quistes son de desarrollo lento y que no generan mortandad de animales. Al revisarles la boca se pudo constatar que los dientes incisivos estaban distribuidos en forma desordenada sobre la tumoración, notándose en algún caso la pérdida de algunas piezas dentales (Foto 2).

Foto 2. Distribución anormal de la dentadura en relación con la presencia de un quiste odontogénico.



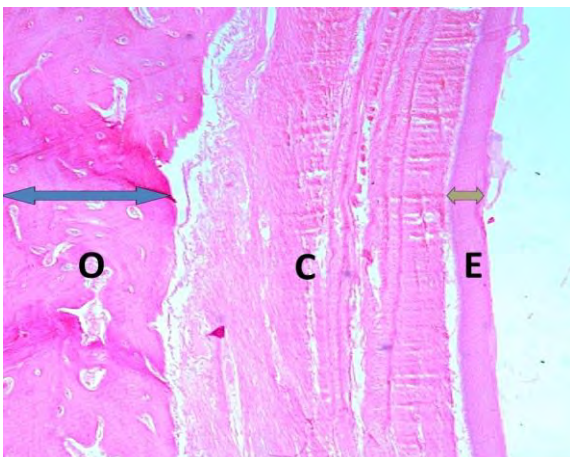
Tras la necropsia, se pudo comprobar que se trataba de quistes huecos, de paredes gruesas, de consistencia tipo ósea. En tres de los cuatro casos examinados las tumoraciones contenían en su interior un líquido blanquecino y en el restante un material pastoso blanquecino. Dos de los quistes con contenido acuoso estaban constituidos por una única cavidad, mientras que el tercero tenía tabiques interiores (Foto 3). En todos los casos presentaban un aroma lácteo no fétido.

Foto 3. Quiste odontogénico con trabéculas interiores formando cavidades y restos de contenido líquido blanquecido en su interior.



Por dentro los quistes estaban revestidos por un tejido blando similar a una membrana y que a la histopatología se pudo clasificar como un epitelio escamoso estratificado compuesto por una capa de escasas células basales (E). Hacia el interior del quiste se observó una capa delgada de una sustancia eosinofílica densa caracterizada como queratina. Entre el tejido óseo (O) y el epitelio, había un grueso tejido fibrovascular subyacente denso y con escasas estructuras vasculares (C) (Foto 4).

Foto 4. Estructura histológica de la pared de un quiste odontogénico.



Sobre 2298 carneros sometidos a revisión clínica en otros 11 establecimientos de la zona, 29 tenían lesiones compatibles con las descritas, arrojando una prevalencia promedio de 1,3%, con un rango de 0,6% a 2,9%.

Discusión

Los casos estudiados en esta oportunidad, son similares a los casos de quistes odontogénicos en ovinos, reportados por Dyson y Spence en Escocia, por Gardner y Orr en Nueva Zelanda y por McManus y Mason en Australia, constituyendo este el primer reporte de esta enfermedad en ovinos Merino de la Argentina.

Respecto a la causa de la enfermedad se desconoce, aunque es probable que esté relacionada con la alteración de los tejidos epiteliales dentales al momento del recambio de los dientes de leche por los definitivos, tal cual lo plantean otros autores y que podría estar influenciado por desbalances minerales y la ingesta de forrajes secos y groseros. Los estudios histopatológicos, marcan una estrecha relación entre el epitelio que recubre los quistes y el epitelio bucal lo que refuerza la hipótesis de que se trataría de un trastorno del desarrollo y no de un proceso infeccioso.

Si bien el relevamiento en otros 11 establecimientos se realizó solo en base a la revisión clínica de carneros, los datos obtenidos dejan en claro que, si bien en prevalencias que no superan el 3%, la enfermedad está diseminada en la región.

Al presente no se ha hallado un tratamiento preventivo y/o curativo por lo que se continúan las investigaciones para confirmar la causa de la enfermedad y la solución a la misma. Por el momento se recomienda a los productores sacar con destino a faena o consumo los animales ni bien comienzan a afectarse.

Bibliografía

- Bruere, A.N.; West, D.M.; Orr, M.B.; O'Callaghan, M.W. 1979. A syndrome of dental abnormalities of sheep. *N Z Vet J*, 27:152-158.
- Dyson, D.A. y Spence, J.A. 1979. A cystic jaw lesion in sheep. *Vet Rec*, 105 :467-468.
- Gardner, D.G. y Orr, M.B. 1990. Dentigerous cysts in sheep. *N Z Vet J*, 38:148-150.
- Gardner, D. G. 1992. Odontogenic cysts of the anterior mandible of sheep. *J. Oral Path & Med*, 21: 42-45.
- Orr, M.B.; O'Callaghan, M.W.; West, D.M.; Bruere, A.N. 1979. A syndrome of dental abnormalities of sheep: II. The pathology and radiology. *N Z Vet J*, 27 (12) :276-278.
- Orr, M.B. y Gardner, D.G. 1996. Prevalence of dentigerous cysts (ovine odontogenic cysts) in ewes in the South Island of New Zealand. *N Z Vet J*, 44:198.
- McManus, T.J. y Mason, R.W. 1998. Dentigerous cysts in a Tasmanian sheep flock. *Aust Vet J* 76:96-97.

QUISTES EPIDERMALES EN UN CARNERO MERINO

Martínez, A.¹; Lauroua, C.²; Marcellino, R.¹; Rodríguez, G.³; Robles, C.¹

¹Grupo Salud Animal INTA Bariloche; ²Residente de FCV UNCPBA; ³Actividad Privada, Maquinchao

Introducción

Los quistes epidurales se describen como nódulos no neoplásicos constituidos por epitelio estratificado conteniendo queratina en su interior. Microscópicamente, se clasifican según la conformación del epitelio en: infundibular, ístmico, matricial e híbrido. Si bien se consideran comunes en los ovinos, en el mundo son escasos los trabajos que describen la lesión en esta especie, y particularmente en Argentina, no existen casos reportados. En cuanto al origen de la lesión, una hipótesis contempla una predisposición genética de determinadas familias de raza Merino Australiano a la degeneración y oclusión de folículos pilosos; otra hipótesis es que posee origen traumático por incrustación de semillas vegetales.

En el presente trabajo se describe la presencia de quistes epidurales en un carnero Merino de la localidad de Maquinchao, provincia de Río Negro.

Materiales y métodos

El Grupo de Salud Animal del INTA Bariloche fue consultado para determinar la etiología de lesiones encontradas en un carnero Merino de 8 años de edad padre de cabaña e hijo de un reproductor importado de Australia. La consulta surgió debido a que en la admisión a una exposición Rural, se rechazó su entrada por la sospecha de que el animal sufriera de una enfermedad infecto-contagiosa, el veterinario actuante sospechaba de Pseudotuberculosis. Con el fin de confirmar un diagnóstico se realizó la anamnesis del caso, la revisión clínica completa del animal y la toma de muestras de las lesiones observadas. Se realizó una biopsia completa de un nódulo el cual fue seccionado por la mitad y fue evaluado macroscópicamente para su caracterización. Una mitad se fijó en formaldehído al 10% y se procesó mediante técnicas histológicas de rutina y se tiñó con HyE. A partir de la otra mitad del nódulo, se realizaron hisopados que fueron sembrados en Agar Sangre y cultivados para identificación microbiológica.

Resultados

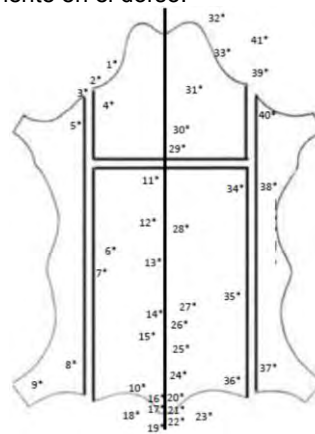
El propietario del animal comentó que fue el único animal afectado de la majada compuesta por 50 carneros y 400 madres. El carnero fue utilizado como reproductor en la cabaña por 5 años. A la revisión clínica el animal estaba vivaz y se alimentaba correctamente, no se

detectó hipertermia. Cuando se realizó la inspección visual y la palpación de toda la superficie del cuerpo se contabilizaron 41 nódulos dermales esféricos u ovalados de diversos tamaños comprendidos entre 5 y 75 mm de diámetro y distribuidos mayoritariamente en el dorso del animal y uno en la oreja (Foto 1 y Figura 1).

Foto 1. Vista del dorso del carnero afectado.



Figura 1. Distribución de los nódulos dermales observados en la inspección clínica del carnero. Obsérvese la distribución de los nódulos principalmente en el dorso.



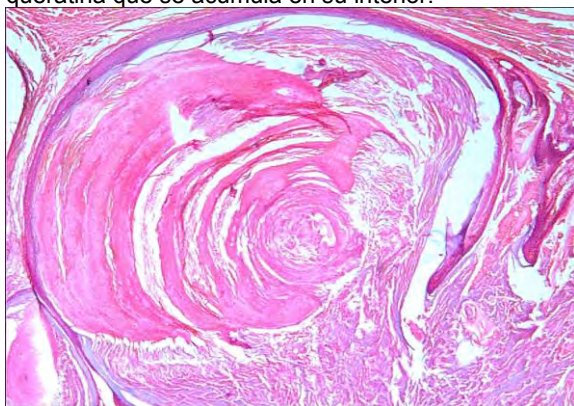
Los nódulos eran firmes al tacto, sin presentar signos de inflamación (sin calor, rubor ni dolor), recubiertos por piel alopecica. En el momento de inspección, la mayoría (37/41) estaban fistulados, algunos sin contenido y tres con presencia de semillas de *Stipa spp* en su interior. Al corte de la biopsia se corroboró la morfología de quiste caracterizada por la presencia de una fina pared de 1-3 mm de espesor que en su interior contenía un material pastoso blanquecino con grumos en forma de grano de arroz (Foto 2).

Foto 2. Vista macroscópica del corte de uno de los nódulos. Se aprecia la consistencia pastosa del contenido.



Microscópicamente, se distinguieron múltiples microquistes formados por una pared de tejido fibroso revestido internamente por epitelio estratificado escamoso constituido por todas las capas celulares: basal, espinosa, granulosa y córnea. En el interior y dispuesto concéntricamente, se observó material eosinofílico de aspecto granular y a veces laminar, clasificado como queratina (Foto 3).

Foto 3. Microfotografía de un quiste epidérmico. Obsérvese el epitelio que recubre el interior del quiste y el contenido eosinofílico caracterizado como queratina que se acumula en su interior.



A partir del cultivo de los hisopados no se aislaron agentes bacterianos.

Discusión

Los hallazgos macro y microscópicos permiten establecer el diagnóstico definitivo de quistes epidérmicos, siendo éste el primer caso reportado en la Argentina. De acuerdo con la característica del epitelio constituido por todas las capas epiteliales, se clasificaron como quistes infundibulares.

Quistes similares fueron observados en ovinos de lana en Brasil, ovinos Suffolk en Inglaterra, y en alpacas en Estados Unidos. Con el fin de establecer el origen de la enfermedad, Lloyd demostró que lesiones realizadas con agujas hipodérmicas sobre la piel generan quistes

epidérmicos debido a la translocación del epitelio desde la superficie de la dermis hacia el subcutáneo. Esta comprobación respondería a la hipótesis de que semillas vegetales duras y puntiagudas son las causantes de estas lesiones. Si bien en el presente caso fueron encontradas tres semillas incrustadas únicamente en quistes fistulados, no pudimos imputar este hallazgo con la causa de la lesión debido a la posibilidad de que la entrada de las semillas haya sido luego de la ruptura del quiste. La raza y origen del animal (Merino Australiano importado) permiten mantener como hipótesis la posibilidad del origen genético de la predisposición a la enfermedad. En animales predispuestos, la aparición de las lesiones ocurre en la edad adulta a partir del 7^{mo} y 8^{vo} año de vida. La ausencia de otros animales afectados en la majada, incluso la descendencia del carnero afectado, se podría explicar debido al manejo del establecimiento donde la vida productiva de los ovinos raramente supera los 6 años, limitando así la posibilidad del desarrollo y observación de las lesiones.

A la inspección clínica, los quistes epidérmicos deben diferenciarse de lesiones de Pseudotuberculosis. Tanto la ubicación fuera de regiones ganglionares, la movilidad junto con la piel (nódulo dérmico) como el aspecto del contenido blanquecino y granuloso son criterios para diferenciarlas clínicamente. Histológicamente, se diferencian por la presencia de epitelio de revestimiento que poseen los quistes epidérmicos. Además, por su naturaleza estéril, los quistes epidérmicos se pueden diferenciar de otras etiologías causantes de abscesos o nódulos por la ausencia de crecimiento bacteriano.

Conclusión

El diagnóstico arribado en el presente caso establece que la enfermedad debería ser considerada como diagnóstico diferencial de otras enfermedades de la piel y vellón que pueden afectar a ovinos en la Patagonia Argentina.

Bibliografía

- Pierezan F., Panziera W., Tessele B., Galiza G.J.N. & Barros C.S.L. 2014. Cistos epidérmicos em ovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 34(11):1056-1060.
- Ginn P.E., Mansell J.E.K.L. & Rakich P.M. 2007. Skin and appendages, p.553- 781. In: Maxie M.G. (Ed.), Jubb, Kennedy and Palmers's Pathology of Domestic Animals. Vol.1. 5th ed. Elsevier Saunders, Philadelphia.
- Lloyd L.C. 1964. The aetiology of cysts in the skin of some families of Merino sheep in Australia. *J. Pathol. Bacteriol.* 88:219-227.

DESGASTE DENTARIO EN OVINOS MERINO DE LA PATAGONIA ARGENTINA, TRAS LA ERUPCIÓN DEL VOLCÁN PUYEHUE

Robles, C.; Cabrera, R; Martínez, A.
Grupo de Salud Animal, INTA Bariloche, CC 277 (8400) Bariloche, Argentina

Introducción

El Complejo volcánico Puyehue-Cordón Caúlle ubicado en territorio chileno entró en erupción el 4 de Junio del 2011 con arrojamiento de diferentes tipos de materiales piroclásticos, siendo el más preocupante desde el punto de vista de los sistemas ganaderos, la ceniza volcánica de muy fina granulometría (10 a 60 μm) compuesta por sílice en un 70%, que se desparramó y depositó fundamentalmente en el oeste y centro de la provincia de Río Negro, sur de Neuquén y norte de Chubut.

Esta situación, sumada a la sequía reinante con precipitaciones anuales en el 2010 de 183 mm/año y en el 2011 de 124 mm/año (Media histórica: 257 mm/año) generó severos problemas en la ganadería regional nunca antes registrados, produciendo la mortandad de aproximadamente el 40% del stock ganadero de la región. Desde el punto de vista sanitario los principales diagnósticos de muerte en ovinos fueron inanición y caquexia, enterotoxemia y disturbios digestivos.

En esta oportunidad se reportan los resultados de la evaluación del desgaste dentario de animales que pastoreaban sobre un pastizal natural afectado por acumulación de cenizas

volcánicas, en un establecimiento ubicado en el departamento de Pilcaniyeu, provincia de Río Negro, Argentina.

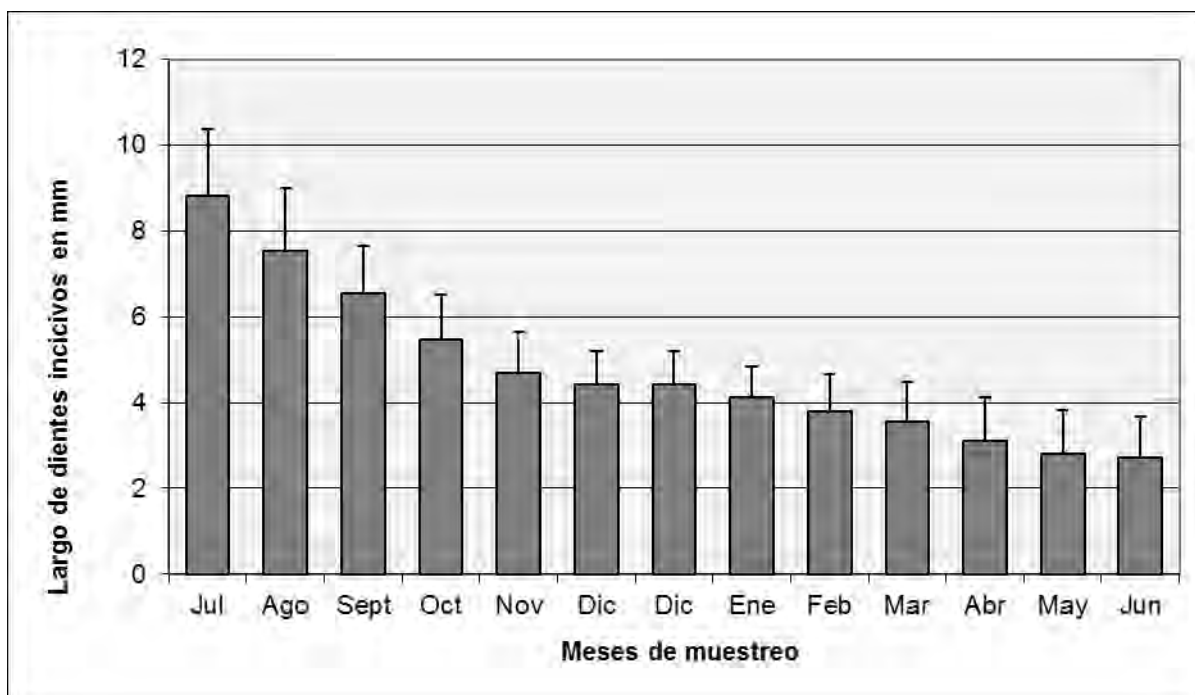
Materiales y Métodos

Tras la erupción se revisaron clínicamente 13 carneros Merino adultos de 3 a 4 años de edad en forma mensual a partir de julio 2011 hasta junio 2012. En cada fecha se midió el largo de los dientes incisivos centrales o pinzas y se tomaron fotografías de la dentadura.

Los carneros fueron mantenidos a campo, en un potrero de 8,1 ha del Campo Experimental Pilcaniyeu del INTA Bariloche donde se constató una capa de ceniza de 8 cm en la zona del mallín y de 3 cm en la zona de pampa.

Resultados

A medida que fueron pasando los meses se fueron viendo los efectos abrasivos de la ceniza sobre los dientes, generando el desgaste prematuro de los mismos. En el siguiente gráfico puede verse el desgaste dentario promedio de los 13 animales a los largo de un año de observación



En la Foto 1 puede observarse el estado de la dentadura de un animal del lote en estudio en el control clínico que se realizó en julio de 2011 y en la Foto 2, la dentadura del mismo animal en el control clínico en junio de 2012.

Foto 1. Estado dentario al inicio del estudio.**Foto 2.** Estado dentario al final del estudio.

Discusión y Conclusiones

El presente trabajo constituye el primer reporte en el país donde se midió a lo largo del tiempo el desgaste dentario en ovinos a causa de la ingesta de ceniza volcánica tras la erupción de un volcán.

La erupción del volcán Puyehue tuvo un efecto devastador nunca visto en la ganadería de la región, principalmente por la pérdida de peso y condición corporal, alta mortandad de animales, el deterioro de los vellones y el descarte anticipado de los animales que lograron sobrevivir, a causa del desgaste prematuro de su dentadura, superando al daño producido por enfermedades clásicas como Enterotoxemia, Brucelosis, Gangrena gaseosa, Fasciolosis, etc.

La cantidad de ceniza caída de origen volcánico no tuvo una dispersión homogénea. A raíz de la acción del viento, la ceniza se fue relocalizando, quedando áreas con mucha acumulación de la ceniza y otras con poca presencia, por lo que en futuros casos de erupción volcánica, se podría intentar utilizar los sectores del campo con menor acumulación de ceniza, para mitigar el efecto nocivo de las mismas sobre el desgaste dentario y la salud del ganado.

De la misma manera, la posibilidad de ofrecer algún suplemento alimentario al ganado, como heno, pellets de alfalfa, balanceado, etc. además de ayudar a mantener en mejor estado corporal a los animales, favorecería una menor ingesta de forraje del potrero y así disminuir el efecto abrasivo de la ceniza presente en el pastizal natural.

Si bien en este caso no se detectaron síntomas de intoxicación en los animales bajo estudio ni en el resto de la población ovina de la región, es importante determinar la composición de la ceniza volcánica a fin de poder alertar sobre la posibilidad de casos de intoxicación como ocurrió durante las erupciones del volcán Lonquimay en 1988 y

del Hudson en 1991, donde a raíz de las altas concentraciones de flúor en la ceniza, hubo casos de intoxicación con presentación de fracturas espontáneas de huesos en el ganado.

A partir de los hallazgos del Centro Atómico Bariloche en partículas de la ceniza caída, se pudo observar que el 70% de la composición de la ceniza correspondía a sílice, lo cual explicaría el alto efecto abrasivo que tuvo la ceniza sobre la dentadura de los animales

Las lecciones aprendidas durante este evento volcánico, deberían ser tomadas en cuenta tanto por los productores como por los gobiernos provinciales y municipales, en el sentido de que se debe atender y proteger el ganado de la región afectada desde un primer momento, previendo que la caída de la ceniza volcánica, tiene un efecto inmediato, pero que luego se proyecta en el futuro afectando la sobrevivencia de los animales y su capacidad de producción y reproducción y por ende afectando la economía y la vida de los productores ganaderos.

Bibliografía

- Araya O, Wittwer F, Villa A, Ducom C. 1990. Bovine fluorosis following volcanic activity in the southern Andes. *Vet Rec.* 126:641-642.
- Mogni, I.; Cotaro, C.; Daga, R. 2011. Análisis preliminar de cenizas volcánicas del sistema Puyehue-Cordón Caulle. Informe del Centro Atómico Bariloche, CNEA, 3 pág.
- Robles C. 2011. Consecuencias de la erupción volcánica sobre la salud del ganado en la región Patagónica. *Revista Presencia (INTA, Argentina).* 57:20-25.
- Suttle, N.; Jones, D. 2007. Micronutrient Imbalance. En: *Sheep diseases.* Ed Aitken I.D., Blackwell Publishing, UK. 377-394.
- Wilson T, Stewart C, Leonard G. 2009. Assessment of impacts of, and short-term recovery from, the May 2008 eruption of Volcán Chaitén, Chile. Trip report. Join Centre for Disaster Research, report 2009/01. University of Canterbury and Massey University.

REPORTE DE UN CASO DE DISTOCIAS EN OVINOS ASOCIADA A HIPOMAGNESEMIA EN LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES

Rial, C.¹; Perdomo, R.¹; Artía, L.¹; Álvarez Gentil, I.¹; Llada, I.¹; Drake, M.¹; Manes, J.¹; Fernández, E.¹; Cantón, G.¹

¹INTA EEA Balcarce

Introducción

La hipomagnesemia es un desorden metabólico mineral que se caracteriza por el descenso de la concentración de magnesio (Mg) en sangre, afectando principalmente a rumiantes. Cursa con episodios de agresividad, tetania y muerte. Es una patología frecuente en bovinos, siendo la principal causa de muerte en los rodeos para carne de la provincia de Buenos Aires, mientras que en ovinos es poco frecuente. El objetivo de este trabajo es describir episodios de distocias en ovinos del partido de Balcarce, asociados a hipomagnesemia, diagnosticada por el Servicio de Diagnóstico Veterinario Especializado (SDVE) del INTA Balcarce.

Materiales y Métodos

El episodio ocurrió durante el invierno del 2016, en una majada de 190 borregas y ovejas Texel con buena condición corporal y gestaciones a término que se encontraban consumiendo un verdeo de avena. Si bien los pesos al nacer de los corderos eran normales, se registraron muchas distocias. Se recolectaron muestras de sangre de 20 vientres, 10 paridos y 10 gestantes, para determinar la concentración de Mg y calcio (Ca) mediante espectrometría de absorción atómica (EEA). Se tomaron muestras de la avena que la majada consumía para evaluar la concentración de Mg, Ca y K mediante EEA, y de esta manera calcular el potencial tetanizante (PT: K/Ca+Mg). Además, se evaluó la calidad del agua que consumían.

Resultados

Se asistieron los partos del 84% de la majada (100% de borregas y 80% de ovejas). Se corroboró deficiencia de Mg y Ca tanto en ovinos paridos como no paridos (tabla 1). Se detectó un alto potencial tetanizante en la avena que consumían (tabla 2). Las características químicas del agua de bebida eran aptas para consumo por esta especie.

Tabla 1: Concentración de Mg y Ca promedio (\pm DE) en las muestras de suero de ovinos de la majada afectada.

Sueros	Mg (mg/100 ml)	Ca (mg/100ml)
Ovinos paridos	1,79 (\pm 0,28)	9,28 (\pm 1,08)
Ovinos no paridas	1,71 (\pm 0,15)	8,94 (\pm 0,96)
Valores de referencia	2,2-2,8 mg/100 ml	11,5-12,8 mg/100 ml

Tabla 2: Concentración de Mg, Ca y K, potencial tetanizante (PT) en la avena que los ovinos consumían.

Muestra	Ca (%MS)	Mg (%MS)	K (%MS)	PT mEq/base
Avena	0,25	0,13	4,15	4,44
Valores de referencia	>0,4 %MS	>0,2 %MS	<3,0 %MS	<2,2 mEq/base

Discusión

Teniendo en cuenta estos hallazgos, se encerró la majada, se les administró una solución de Mg endovenosa, se les proveyó heno y un suplemento de sales minerales en el agua, no observando más casos clínicos. Si bien la hipomagnesemia suele presentarse clínicamente como cuadros de tetania, se han descrito cuadros de distocias producto de partos lánguidos asociados.

Conclusión

Las distocias asociadas a hipomagnesemia/hipocalcemia no son frecuentemente diagnosticadas en ovinos de la región. Sin embargo, este hallazgo demuestra que esta enfermedad carencial debe tenerse en cuenta a la hora de plantear el manejo, especialmente en vientres.

Bibliografía

- Brizuela, M. y Cseh, S. 2003. Composición mineral y potencial tetanizante en verdeos de invierno sembrados en diferentes fechas. Rev. Arg. Prod. Anim. 23(2):91-101.
- Herd, R. 1966. Grass tetany in sheep. Aust. Vet. J. 42(5):160-164.

REPRODUCCIÓN EXPERIMENTAL DE DIPLODIOSIS EN OVINOS

Machain, J.¹; Lloberas, M.¹; Cantón, G.¹; Fernández, M.¹; Moreno, G.¹; Odriozola, E.¹
⁽¹⁾INTA EEA Balcarce

Introducción

La Diplodiosis es una enfermedad producida por el consume de micotoxinas generadas por el hongo *Stenocarpella maydis* (= *Diplodia maydis*). La enfermedad ha sido diagnosticada en varias regiones del mundo y recientemente confirmada en Argentina. La toxicosis produce signología nerviosa, abortos y nacimiento de terneros con anormalidades y muerte. El objetivo de este trabajo fue reproducir experimentalmente la intoxicación en ovinos.

Materiales y Métodos

Se utilizó una cepa de *S. maydis* aislada de un episodio de intoxicación natural en bovinos, la que fue cultivada en agar papa durante 30 días a 30°C en un ambiente oscuro para lograr crecimiento en masa de esporas. Luego, fue cultivado en botellas con maíz esterilizado, a 28°C en oscuridad durante 7 semanas hasta que los cultivos fueron estimulados para la producción de toxinas.

Se utilizaron 4 ovejas adultas Frisonas que fueron ubicadas en corrales con agua y heno *ad libitum*. A 2 ovejas se les administró 9 dosis 3.3g de maíz por kg de peso vivo a los días 0, 1, 2, 15, 16, 17, 30, 31 y 32 usando una sonda esofágica.

Se observaron signos clínicos 3 veces al día durante todo el ensayo. Al día 42, los animales fueron eutanasiados para realizar necropsias. Los tejidos fueron fijados en formol bufferado para realizar análisis histopatológico.

Resultados

Se observaron signos clínicos luego de 18 días de administración del maíz con *S. maydis*. Las ovejas se rehusaban a desplazarse, presentan ataxia del miembro posterior, alteración de la marcha y pérdida de equilibrio. Estos signos fueron gradualmente desapareciendo hasta el día 21. No se observaron signos clínicos hasta el día 32. La temperatura rectal y el apetito de las ovejas afectadas no se vieron alterada. No se observaron lesiones tanto durante la necropsia como durante el análisis histopatológico.

Foto 1. Maíz contaminado con *Stenocarpella maydis*.



Discusión

Estos resultados concuerdan con los observados previamente por otros autores. En estas condiciones, se necesitaron 8 semanas de cultivo para producir toxinas por el hongo. Los signos clínicos observados fueron similares a los descritos por la bibliografía. De acuerdo a estos resultados, se presume que los animales demostrarían un acostumbramiento a la toxina, ya que no se observaron más signos luego de las últimas 3 dosificaciones.

Bibliografía

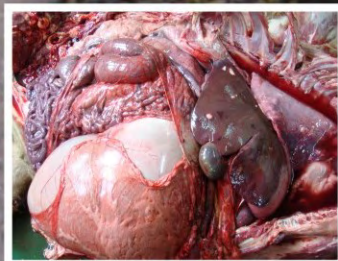
- Kellerman, T.; Rabie, C.; van der Westhuizen, G.; Kriek, N.; Prozesky, L. 1985. Induction of diplodiosis, a neuromycotoxicosis, in domestic ruminants with cultures of indigenous and exotic isolates of *Diplodia maydis*. Onderstepoort J Vet Res 52:35-45.
- Odriozola, E.; Odeón, A.; Cantón, G.; Clemente, G.; Escande, A. 2005. *Diplodia maydis*: a cause of death of cattle in Argentina. N Z Vet J 53:160-161.



-2018-

Enfermedades de ovinos, caprinos y camélidos sudamericanos

Editor: Carlos Robles



Secretaría de Agroindustria



Ministerio de Producción y Trabajo
Presidencia de la Nación