

Avances en investigación en

Salud Pública Veterinaria

en la Provincia de la Pampa

Editor:
Med. Vet. (Dr) Ariel Omar Miranda



EEA Anguil "Ing. Agr. Guillermo Covas"
**Instituto Nacional de
Tecnología Agropecuaria**

Diseño Gráfico

Dis. Gráf. Francisco Etchart

Impresión

Gustavo J. Moyano

Impreso en los talleres gráficos de la
EEA INTA Anguil “Ing. Agr. Guillermo Covas”

Tirada de 500 ejemplares

Agosto de 2014



EDICIONES INTA
EEA INTA Anguil Ing. Agr. Guillermo Covas
(6326) Anguil, La Pampa, Argentina.

Contenidos

01	Caracterización bioquímica y molecular de cepas de <i>Campylobacter fetus</i> aisladas de toros infectados naturalmente, provincia de La Pampa, Argentina Baldone, V.N.; Fort, M.C.; Urquiza, L.F.	7
02	Evaluación de vacunas experimentales a <i>Tritrichomonas foetus</i> aplicada en vaquillonas Fuchs, L.; Fort, M.; Cano, D.; Bonetti, C.; Giménez, H.; Vázquez, P.; Baldone, V.; Rojas, M.; Campero, C.	12
03	Principales agentes infecciosos involucrados en las pérdidas reproductivas del ganado bovino en la región semiárida Pampeana. Casuística 2004-2011 Rojas, M.; Perez, L.; Esaín, F.; Fort, M.	18
04	Avances sobre el conocimiento en Chlamydias en los rodeos bovinos de la provincia de La Pampa Rojas, María	21
05	Fecha de inicio de servicio: ¿en cuánto afecta una mala elección? Vázquez, Pablo	24
06	Caso reportado en bovinos de Síndrome Vestibular o Parálisis Facial en la provincia de La Pampa, Argentina Romero Harry, H.; Miranda, A.; Gauna, C.I.; Trinchero, M.; Minatel, L.; Giménez, H.	27
07	Detección de monensina por espectrofotometría en piensos para la alimentación del ganado vacuno Bernerí, M.J.; Miranda, A. O.; Frances, O.; Mastrantonio, G.	33
08	Caso presuntivo de Fiebre Catarral Maligna en la provincia de La Pampa, Argentina Miranda, A.; Romero Harry, H.; Montero, S.; Minatel, L.; Bratanich, A.	37
09	Epidemiology of cattle diseases in the north east of La Pampa province, Argentina Miranda a, A. O.; Suárez, V. H.	40
10	Prevalencia y factores de riesgo a Equinococosis en canes en establecimientos con hallazgo de frigorífico compatible a hidatidosis bovina Miranda, A.; Sago, A.	47
11	Resistencia antihelmíntica en la Región Pampeana: Principales factores de riesgo implicados en el desarrollo de resistencia antihelmíntica Cristel S.L.; Suárez V.H.	54
12	<i>Brucella suis</i> in armadillos (<i>Chaetophractus villosus</i>) from La Pampa, Argentina Kin, M.S.; Fort, M.; de Echaide, S.T.; Casanave, E.B.	62
13	Aplicación de bioensayos a la evaluación ecotoxicológica de efluentes de tambo Poggio Herrero, I.V.; Mariamé, M.P.; Rodríguez, C.; Fanelli, S.L.; Porta, A.; Fort, M.; Mastrantonio Garrido, G.	64

prólogo

El constante desafío en la búsqueda de respuestas en salud animal, hoy día asociada directamente a salud pública, exige un compromiso cada vez mayor de la comunidad científica frente al desafío de generar conocimiento en el terreno de la ciencia. Los avances en técnicas moleculares sobrevenidos a lo largo de estas últimas décadas, han permitido un desarrollo en el campo de la investigación tal vez poco imaginado. Esto ha permitido avanzar significativamente en la caracterización de agentes patógenos de impacto negativo en los sistemas de producción ganadera de nuestro país y el mundo.

El presente documento reporta los avances en investigación científica llevados a cabo a lo largo de estos últimos 2 años relacionados a enferme-

dades de la reproducción del ganado bovino, diagnóstico veterinario, parasitología, enfermedades en animales silvestres como huéspedes reservorios así como también los primeros avances en residuos pecuarios de la empresa ganadera en el medio ambiente. Por otro lado, dichos artículos pueden hallarse en diferentes ámbitos de comunicación científica de alcance regional, nacional e internacional. La presente publicación pretende informar sobre los avances en materia de conocimiento científico del grupo de Salud Pública Veterinaria en su conjunto.

MV, Dr. Ariel Omar Miranda
Grupo Salud Pública Veterinaria
EEA INTA Anguil, La Pampa

Caracterización bioquímica y molecular de cepas de *Campylobacter fetus* aisladas de toros infectados naturalmente, provincia de La Pampa, Argentina

RESUMEN

Campylobacter fetus es una enfermedad de transmisión sexual causante de la Campylobacteriosis Genital Bovina (CGB). Produce además, importantes pérdidas reproductivas en los rodeos de cría de la Argentina. Se reconoce hoy a *C. fetus* como un grupo de microorganismos genéticamente homogéneo que habitan en el tracto reproductor de bovinos adultos. A lo largo de estos años se ha buscado desarrollar nuevas alternativas para el diagnóstico de *C fetus* en infecciones bovinas. Los métodos moleculares, tales como la Polymerase Chain Reaction (PCR) se han desarrollado y empleado para diferenciar las dos subespecies de *C fetus*. El objetivo de este trabajo de investigación fue caracterizar bioquímica y molecularmente cepas de *C fetus* aislados del tracto genital de toros afectados de casos naturales en diferentes localizaciones geográficas de la Provincia de La Pampa. Se llevó a cabo a partir de muestras prepuciales de toros pertenecientes a establecimientos con diagnósticos previos por Inmunofluorescencia Directa (IF). Las cepas aisladas fueron caracterizadas mediante oxidasa, catalasa y crecimiento en placa de Thioglicolato con distintos porcentajes de glicina (0,6%, 1%, 1,1%, 1,3%, 1,5% y 1,9%), y mediante dos técnicas de PCR, una para diferenciar *C fetus fetus* (*Cff*) y *C fetus venerealis* (*Cfv*) y la PCR Cf CO5 la cual diferencia *C fetus venerealis* de *C fetus venerealis* intermedio. Finalmente podemos concluir que la PCR puede ser una técnica muy eficaz a la hora de diferenciar subespecies de *C fetus* y

que *C f venerealis* y *C f v intermedius* son la principales causantes de la CGB en la provincia de La Pampa.

INTRODUCCIÓN

Campylobacter fetus es el agente causante de la Campylobacteriosis Genital Bovina (CGB). Esta enfermedad de transmisión sexual tiene distribución mundial y en la Argentina es una de las enfermedades que más afectan la producción bovina del país (Campero, 2000).

C. fetus habita en el tracto reproductor de bovinos adultos. En el toro se localiza en el prepucio y pene y en la hembra coloniza el fondo de la vagina, cérvix y útero. Los signos de campylobacteriosis en el rodeo se manifiestan con repeticiones de celo, disminución de los porcentajes de preñez y pérdidas tacto-parto. La muerte del embrión y el aborto consecuente son las causas de tales pérdidas (Skirrow, 1994).

La CGB causa importantes pérdidas reproductivas en los rodeos de cría en la Argentina y en el mundo (Terzolo y Catena, 2007). Los datos recopilados por el INTA y laboratorios privados indican la presencia de *C. fetus* en el 0.4% al 5.2% de los toros examinados en distintas regiones de nuestro país (Campero y Martínez, 2010). Las pérdidas debidas a enfermedades venéreas se han estimado en 165 millones de dólares anuales (Campero, 2002).

C. fetus se reconoce hoy como un grupo de microorganismos genéticamente homogéneo, conformado por dos subespecies denominadas *C.*

fetus fetus y *C. fetus venerealis* (Verón y Chatelain, 1973). *C. fetus venerealis* incluye además el biovar *C. fetus venerealis* biovariedad (bv) *intermedius* (Denes y col, 1997) (Dingle y col, 2005). *C. fetus fetus* habita principalmente el intestino del ganado vacuno y ovino y según la bibliografía, es causa esporádica de aborto. *C. fetus venerealis* está muy adaptado para colonizar exclusivamente el tracto genital del bovino y raramente se lo halla en otras mucosas del animal (Bryner y col, 1964). La diferenciación entre ambas subespecies se basa en su diferente capacidad para desarrollar en presencia de 1% glicina, sensibilidad o tolerancia al metronidazol, cefoperazona, permanganato de potasio, fucsina básica, reducción de selenito y crecimiento a 42°C (Terzolo, 1988) (On y Harrington, 2001).

A lo largo de estos años se ha buscado desarrollar nuevas alternativas para el diagnóstico de *C. fetus* en infecciones bovinas. Sin embargo la mayoría de los laboratorios utilizan la técnica de inmunofluorescencia directa (IF) por su rapidez, bajo costo, sensibilidad y especificidad (Martínez y Gau, 1986). El cultivo microbiológico sigue siendo la técnica de referencia, sin embargo la alta contaminación que acarrean las muestras prepuciales sumado al costo de disponer de una atmósfera microaerofílica y equipamiento, el tiempo que requiere el desarrollo de un cultivo y la posterior realización de pruebas bioquímicas, hacen imposible realizar microbiología en forma rutinaria. (Lander, 1990; Hum y col, 1994).

Como ambas subespecies son antigénicamente similares los conjugados que se emplean en inmunofluorescencia (IF) no diferencian entre *C. fetus fetus* y *C. fetus venerealis*, por lo que no se dispone de información sobre diferenciación de estas dos subespecies a nivel regional. El conocimiento de la incidencia de estas subespecies es importante para establecer las diferentes metodologías de control que deben ser aplicadas en cada caso en particular.

Los métodos moleculares, tales como la Polymerase Chain Reaction (PCR) (Hum y col, 1997), se han desarrollado y empleado para diferenciar las dos subespecies de *C. fetus*. Aunque estas técnicas moleculares coinciden en general con la caracterización fenotípica de las cepas de ambas subespecies es frecuente observar muchas discrepancias cuando se examinan los detalles taxonómicos. El objetivo de este trabajo

de investigación fue caracterizar bioquímica y molecularmente cepas de *C. fetus* aislados del tracto genital de toros afectados de casos naturales en diferentes localizaciones geográficas de la Provincia de La Pampa.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se llevó a cabo a partir de muestras prepuciales de toros pertenecientes a establecimientos con diagnósticos previos por IF. Se trabajó en colaboración con laboratorios privados de diagnóstico veterinario existentes en la región, los cuales brindaron la información necesaria mediante la cual se pudo acceder a los campos con toros positivos a IF desde mayo del 2009 hasta diciembre del 2012.

Una vez identificados los rodeos, se concurrió al establecimiento donde se obtuvieron muestras prepuciales mediante el método de aspiración por pipeta y jeringa de todos los toros positivos a IF. La muestra prepucial se colocó en solución salina bufferada (PBS); luego de 15-30 minutos de reposo a temperatura ambiente y protegido de la luz solar, se extrajo 0,5 ml del sobrenadante y se colocó en el medio de transporte y enriquecimiento de Thomann (TTE) (Harwood y col, 2009) transportándose hasta el laboratorio. Finalmente la solución salina restante se formoló al 1% para su posterior procesamiento para IF.

Una vez en el laboratorio, las muestras en TTE se incubaron en la cámara de 37°C durante 2 a 3 días para luego realizar el cultivo en placas de agar Base con 6% de sangre equina y agar Skirrow (Skirrow, 1977). Las placas se cultivaron en jarras con microaerofilia usando una atmósfera de 5% de CO₂, 5% de O₂ y 90% de N₂, a 37°C durante 3 a 4 días.

Las cepas aisladas fueron caracterizadas mediante los métodos bacteriológicos tradicionales: oxidasa, catalasa y crecimiento en placa de Thioglicolato con distintos porcentajes de glicina (0,6%, 1%, 1,1%, 1,3%, 1,5% y 1,9%), y mediante dos técnicas de PCR: una para diferenciar *C. fetus fetus* (*Cff*) y *C. fetus venerealis* (*Cfv*) y la PCR *Cf* CO₅ la cual diferencia *C. fetus venerealis* de *C. fetus venerealis* intermedio.

La extracción de ADN y las técnicas de PCR se realizaron según protocolos diseñados en el Animal Sciences Group, Division of Infectious Diseases and OIE Reference Laboratory for

Campylobacteriosis, Lelystad, The Netherlands. (Linda van der Graaf – van Bloois, comunicación personal).

PCR para *Campylobacter fetus*: se procederá a la extracción de ADN a partir de las cepas aisladas en las placas de agar de la siguiente manera: se suspenderá una colonia en 300µL de agua destilada, se calentará a 100°C durante 5 minutos, se centrifugará a 10.000 rpm durante 10 minutos y finalmente se conservará el sobrenadante. Se utilizarán dos pares de “primers”, el primer par amplificará para *C. fetus* subsp para obtener un producto de 390 pb, mientras que el otro par de primers se amplificará para *C fetus venerealis* para obtener una doble banda en 390 pb y 233 pb. Se incluirán controles positivos y negativos de las muestras a testear. Una alícuota de 2µL de ADN se amplificará en un volumen 23µL conteniendo 3µL de buffer de reacción 5x (con 25mM de MgCl₂), 1µL de cada primer (25 pmol/µl) 1,5 µL de dNTP's, 19 µL de agua para PCR y 0,5µL de TAQ DNA polimerasa (5u/µL). La técnica de PCR se llevará a cabo en un termociclador; todos los componentes de la reacción serán mezclados e incubados a 95°C durante 3 minutos. Este paso será seguido de 35 ciclos a 95°C durante 30 segundos, 48°C durante 30 segundos y 72°C durante 30 segundos. Finalmente las muestras se incubarán a 72°C durante 10 minutos. El producto de la técnica de PCR se someterá a electroforesis en un gel de agarosa al 2%, en una solución tamponada 1x Tris-acetato-EDTA, conteniendo gel red, visualizándolo bajo luz ultravioleta.

PCR para *Campylobacter fetus venerealis* by *intermedius*: Se utilizará un par de “primers” que amplifica para *Campylobacter fetus venerealis* obteniendo un producto de 54 pb. Se incluirán controles positivos y negativos de las muestras a testear. Una alícuota de 2µL de ADN se amplificará en un volumen 48µL conteniendo 5µL de buffer de reacción 5x (con 25mM de MgCl₂), 1µL de cada primer (25 pmol/µl), 5 µL de dNTP's, 35,75µL de agua para PCR y 0,25µL de TAQ DNA polimerasa (5u/µL). La técnica de PCR se llevará a cabo en un termociclador; todos los componentes de la reacción serán mezclados e incubados a 95°C durante 5 minutos. Este paso será seguido de 35 ciclos a 94°C durante 1 minuto, 54°C durante 1 minuto y 72°C durante 2 minutos. Finalmente las muestras se incubarán a 72°C durante 10 minutos. El producto de la técnica de PCR se someterá a electro-

foresis en un gel de agarosa al 4%, en una solución tamponada 1x Tris-acetato-EDTA, conteniendo gel red, visualizándolo bajo luz ultravioleta.

RESULTADOS

En la tabla 1 pueden observarse los resultados por caracterización bioquímica, molecular e IF de las cepas aisladas de toros pertenecientes a distintas regiones de la provincia de La Pampa. Se aislaron en total 30 cepas, de las cuales 22 resultaron compatibles con *C fetus venerealis*. Excepto la cepa N° 19, la cual es viable en glicina hasta 1,3%, en las demás se observan resultados equivalentes a los esperados para dicha subespecie.

Solo 5 de las 30 cepas corresponden a *C fetus fetus*, una de ellas la cepa N° 20 no presenta crecimiento a diferentes porcentajes de glicina lo cual no es correcto. De todas las cepas que fueron identificadas como Cfv en la primer PCR, 12 se identificaron como *Cfv intermedius* mediante la PCR Cf CO₅.

CONCLUSIONES

Todas las cepas fueron positivas ante la IF lo cual es llamativo en las cepas N° 6, 14 y 15 que en ninguna de las técnicas anteriores se identifican como *C fetus* por lo que no deberían ser visibles en la IF. El conjugado utilizado es específico para *C fetus* (Gamaglobulina anti *Campylobacter fetus venerealis*, conjugada con isotiocianato de fluoresceína) por lo que no debería detectarse ningún otro microorganismo perteneciente a Csp. En este caso se podría decir que dicha técnica estaría dando un falso positivo.

La caracterización molecular mediante la PCR aquí descrita puede ser muy eficaz a la hora de identificar a *C fetus* sp y distinguir entre estas subespecies en un simple paso. Los métodos bacteriológicos tradicionales, entre ellos el crecimiento a distintos porcentajes en glicina, fueron desde siempre muy utilizados para la diferenciación de *C fetus* subsp y considerados como técnicas “gold standard”. Al comparar los resultados obtenidos en este trabajo en donde se pudo caracterizar correctamente a todas las cepas mediante PCR, podemos concluir que no solo es una potencial técnica de diagnóstico de rutina, sino también un método mediante el cual se puede obtener relevante información epidemiológica.

Nº	Oxid	Catal	Crec glicina	IFD	PCR	PCR CO5
1	Pos	Pos	Neg	Pos	CFV	CFV
2	Pos	Pos	Neg	Pos	CFV	CFVI
3	Pos	Pos	0,6(+/-)	Pos	CFV	CFV
4	Pos	Pos	0,6(+/-)	Pos	CFV	CFV
5	Pos	Pos	0,6(+/-)	Pos	CFV	CFV
6	Pos	Neg	Neg	Pos	Csp	
7	Pos	Pos	0,6(+/-)	Pos	CFV	CFVI
8	Pos	Pos	0,6(+/-)	Pos	CFV	CFV
9	Pos	Pos	0,6 (+)-1(+/-)	Pos	CFV	CFVI
10	Pos	Pos	0,6(+/-)	Pos	CFV	CFV
11	Pos	Pos	Neg	Pos	CFV	CFVI
12	Pos	Pos	0,6(+)-1(+/-)	Pos	CFV	CFV
13	Pos	Pos	Pos hasta 1,1(+)	Pos	CFF	
14	Pos	Neg	Neg	Pos	Csp	
15	Pos	Neg	Neg	Pos	Csp	
16	Pos	Pos	0,6 (+)-1(+/-)	Pos	CFV	CFVI
17	Pos	Pos	0,6 (+)-1(+/-)	Pos	CFV	CFV
18	Pos	Pos	0,6(+/-)	Pos	CFV	CFVI
19	Pos	Pos	Pos hasta 1,3(+/-)	Pos	CFV	CFVI
20	Pos	Pos	Neg	Pos	CFF	
21	Pos	Pos	Neg	Pos	CFV	CFVI
22	Pos	Pos	0,6(+)-1(+/-)	Pos	CFV	CFV
23	Pos	Pos	0,6(+/-)	Pos	CFV	CFV
24	Pos	Pos	0,6(+)	Pos	CFV	CFVI
25	Pos	Pos	Pos hasta 1,5(+)	Pos	CFF	
26	Pos	Pos	0,6(+)	Pos	CFV	CFVI
27	Pos	Pos	Pos hasta 1,5(+)	Pos	CFF	
28	Pos	Pos	0,6(+)	Pos	CFV	CFVI
29	Pos	Pos	Pos hasta 1,5(+)	Pos	CFF	
30	Pos	Pos	0,6 (+)-1(+/-)	Pos	CFV	CFVI

Tabla 1: Resultados obtenidos mediante caracterización bioquímica y molecular de las cepas aisladas de toros en la provincia de La Pampa.

Oxid: oxidasa, Catal: catalasa, Crec: crecimiento, CFVI: *Campylobacter fetus* venerealis intermedio

Por último concluimos que, de acuerdo a los datos obtenidos en este trabajo, *C f venerealis* y *C f v intermedius* son la principales causantes de la CGB en la provincia de La Pampa.

BIBLIOGRAFIA

- Bryner, J. H., P. A. O'Berry, and A. H. Frank. 1964. *Vibrio* infection of the digestive organs of cattle. *Am. J. Vet. Res.* 25:1048-1050.
- Campero CM, Martínez A. 2010. Jornadas de Actualización en enfermedades de los bovinos. Azul. Buenos Aires.
- Campero CM. 2002. Pérdidas ocasionadas por las enfermedades venéreas de los bovinos. *Rev. Idia XXI* 2: 127-131.
- Campero, C. M. Las enfermedades reproductivas de los bovinos: ayer y hoy. 2000. Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria, *Anales* 53: 88-112.
- Denes, A. S., C. L. Lutze-Wallace, M. L. Cormier, and M. M. Garcia. 1997. DNA fingerprinting of *Campylobacter fetus* using cloned constructs of ribosomal RNA and surface array protein genes. *Vet. Microbiol.* 54:185-193.
- Dingle, K. E., F. M. Colles, D. Falush, and M. C. J. Maiden. 2005. Sequence typing and comparison of

population biology of *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni*. *J. Clin. Microbiol.* 43:340–347.

• Harwood LJ, Thomann A, Brodard I, Makaya PV y Perreten V. 2009. *Campylobacter fetus* subspecies *venerealis* transport medium for enrichment and PCR. *Veterinary Record.* 165, 507-508

• Hum, S., J. Brunner, A. McInnes, G. Mendoza, and J. Stephens. 1994. Evaluation of cultural methods and selective media for the isolation of *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis* from cattle. *Aust. Vet. J.* 71:184-186.

• Hum, S., K. Quinn, J. Brunner, and S. L. On. 1997. Evaluation of a PCR assay for identification and differentiation of *Campylobacter fetus* subspecies. *Aust. Vet. J.* 75:827-831.

• Lander, K. P. 1990. The application of a transport and enrichment medium to the diagnosis of *Campylobacter fetus* infections in bulls. *Br. Vet. J.* 146:334-340

• Martinez, A. H., J. C. Bardon, B. P. Nosoda, J. M. Cordeviola, F. Sarmiento, and J. A. Gau. 1986. Herd diagnosis on Trichomoniasis and *Campylobacteriosis* in bovine utilizing the empty cow as indicator. *Vet. Arg.* 111:962-966.

• On, S. L. W., and C. S. Harrington. 2001. Evaluation of numerical analysis of PFGE-DNA profiles for differentiating *Campylobacter fetus* subspecies by comparison with phenotypic, PCR and 16S rDNA sequencing methods. *J. Appl. Microbiol.* 90:285-293.

• Skirrow MB, *Campylobacter enteritis* – a “new” disease. *British med. J* ii: 9-11, 1977

• Skirrow, M. B. 1994. Diseases due to *Campylobacter*, *Helicobacter* and related bacteria. *J. Comp. Pathol.* 111:113-149.

• Terzolo, H. R. 1988. Identificación of *Campylobacters* from bovine and ovine faeces. *Revista Argentina de Microbiología* 20:53-68, 1988 – ISSN 0325-7541.

• Terzolo, H.R.; Catena, M. (2007). *Campylobacter*. En: “*Microbiología Veterinaria*”. Eds. Stanchi N.O.; Martino P.E.; Gentilini E.; Reinoso E.H.; Echeverría M.G.; Leardini E.; Copes J.A. Capítulo 34. p. 274-280.

• Véron, M., and R. Chatelain. 1973. Taxonomic study of the genus *Campylobacter* Sebald and Véron and designation of the neotype strain for the type species, *Campylobacter fetus* (Smith and Taylor) Sebald and Véron. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 23:122–134.

Fuchs, L.; Fort, M.; Cano, D.; Bonetti, C.; Giménez, H.;
Vázquez, P.; Baldone, V.; Rojas, M.; Campero, C.

Evaluación de vacunas experimentales a *Tritrichomonas foetus* aplicada en vaquillonas

INTRODUCCIÓN

La tricomonosis bovina es una enfermedad de transmisión sexual del bovino ocasionada por el protozoo *Tritrichomonas foetus*. Provoca severas pérdidas reproductivas y baja tasa de preñez (OIE, 2006). En el macho, la infección es asintomática y no afecta la calidad seminal ni la libido (BonDurant y col, 1997). En la hembra, ocasiona infertilidad temporaria, vaginitis, endometritis, mortalidad embrionaria y abortos tempranos con ocasionales piómetras.

Dentro de las medidas de control que se utilizan para controlar la enfermedad están: el descarte de los toros positivos, la compra de toros con el diagnóstico negativo a dos muestreos sucesivos realizados al preservicio y la vacunación preventiva del rodeo en riesgo.

Se han realizado diferentes trabajos con vacunas experimentales a *T. foetus*, tanto a base de célula entera (Kvasnicka y col, 1989; Campero y col, 1998) como las elaboradas con antígenos particulados o a subunidades de *T. foetus* (BonDurant, 1993; Campero, 1999; Cobo, 2002). En todos los ensayos se observó una reducción en el número de hembras infectadas y menor duración de la infección genital, mayor porcentaje de hembras preñadas en comparación con los animales controles. Sin embargo, en ninguno de estos trabajos experimentales se logró evitar la colonización del parásito a nivel genital en la hembra bovina.

Los adyuvantes más utilizados en las vacunas

de uso veterinario son las emulsiones de aceite mineral (aceite en agua o viceversa) y los adsorbentes como hidróxido y fosfato de aluminio. En general, todos los adyuvantes permiten una mayor eficiencia en la respuesta inmune generando un mayor nivel de anticuerpos específicos y de allí su importancia al momento de elaborar una vacuna.

Los trabajos experimentales realizados en Argentina con vacunas a *T. foetus* han utilizado adyuvante oleoso (Arlacel C, Marcol 52) (Campero y col, 1998, Cobo y col, 2002, Riccio y col, 2008). Trabajos realizados en otros países emplearon diversos adyuvantes: Freund's (BonDurant et al., 1993), Quil A (Corbeil y col., 1998, 2001)

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la eficacia de vacunas elaboradas a base de célula entera de *T. foetus* empleando diferentes adyuvantes aplicadas a vaquillonas y establecer la mejor combinación para lograr una vacuna efectiva contra la tricomonosis.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cepa de *T. foetus* y dosis de vacuna

Para la preparación de las vacunas se utilizó una cepa de referencia de *T. foetus* identificada como B1 (Reinmann, 2011) la cual fue aislada del útero de una vaca con piómetra y empleada en trabajos previos (Campero y col, 1999; Cobo y col, 2002). Se obtuvieron cultivos axénicos de dicha cepa en Caldo Infusión Hígado (CIH) adicionada de 10% de suero equino estéril e inactivado.

Todas las dosis vacunales utilizadas se estandarizaron a la concentración de 1×10^8 células de *T. foetus* que con el adyuvante se lo ajustaba al volumen final de 5 ml. Se fraccionaron fraccionándose en recipientes estériles.

Adyuvantes

En todos los casos, los adyuvantes utilizados se mezclaron con la cantidad de antígeno de *T. foetus* antes mencionada al momento de preparar las vacunas.

- Grupo QA: Quil A (n=11)
- Grupo H: Gel de Hidróxido de Aluminio $Al(OH)_3$ (n= 10)
- Grupo QAH: Combinación de Quil A+ $Al(OH)_3$ (n=11)
- Grupo O: Oleoso (n= 10)
- Grupo A: Arqueosomas (n=11)
- Grupo CI: Control Infección (n=11)

Animales e Inmunización

Se emplearon 64 vaquillonas vírgenes de 15-18 meses de edad, Aberdeen Angus y sus cruza, provenientes de rodeos negativos a brucelosis, campylobacteriosis y tricomosis. Las mismas se dividieron al azar en 6 grupos a los fines de adjudicarle el tratamiento según el adyuvante utilizado.

Las hembras fueron inmunizadas con dos dosis por vía subcutánea (SC) y una tercera dosis aplicada por vía vaginal (IV) en el lumen del fondo de la vagina. Las dosis se aplicaron con intervalos de 21 días en todos los tratamientos. Los animales se vacunaron en la tabla del cuello.

A las dos semanas de la última dosis de vacuna intravaginal, todas las vaquillonas fueron desafiadas mediante la instilación en la parte anterior de la vagina con pipeta de Cassou de un inóculo de 2 ml de CIH conteniendo 3×10^6 células viables totales de *T. foetus*. Previo al desafío, todas las vaquillonas se sincronizaron mediante la aplicación de dos inyecciones intramusculares de 500 µg de un análogo de prostaglandina $F_{2\alpha}$ con 11 días de intervalo.

Los animales del grupo CI no fueron vacunados pero sí desafiados intravaginalmente.

Recolección de muestras

Se obtuvieron muestras de sangre mediante punción de la vena yugular en cada una de las

inmunizaciones y luego, cada quince días hasta finalizar el ensayo a los 98 días post-desafío (pd). Los sueros se mantuvieron a $-20^{\circ}C$ hasta el momento de su uso para la determinación de anticuerpos. A las 2 semanas pd, se recolectaron muestras de MCV de la parte craneal de la vagina cercana al cérvix mediante la pipeta de Cassou. Este procedimiento se repitió en forma quincenal hasta el final del ensayo (98 pd). Estas muestras fueron sembradas in situ en CIH, cultivadas en estufa a $37^{\circ}C$ y examinadas microscópicamente durante 7 días (Campero y col, 1986) para determinar la presencia del parásito. En forma similar, una alícuota del MCV se recolectó en 2 ml PBS y se conservó a $-20^{\circ}C$ hasta el momento de su uso para determinar anticuerpos IgA.

Test de Elisa para detectar anticuerpos de *T. foetus*

Se determinaron los anticuerpos de *T. foetus* en suero sanguíneo y en MCV mediante ELISA indirecto.

Considerando las variaciones existentes en el procesado de las sucesivas placas, los valores de absorbancia expresados en densidad óptica (DO) se transformaron a valores ELISA (VE) mediante la aplicación de la siguiente fórmula (Cobo y col, 2002).

Densidad óptica corregida = Valor ELISA (VE):
(densidad óptica suero problema – densidad óptica control negativo)

(densidad óptica control positivo – densidad óptica control negativo)

Por consiguiente, el valor de la densidad óptica de los controles positivos equivalen a VE 1 y la densidad óptica de los controles negativos equivalen a VE 0.

Análisis estadístico

Para los diferentes tipos de datos obtenidos se utilizó un nivel de significancia del 5% según los métodos estadísticos. Para establecer las diferencias entre tratamientos se utilizó el Modelo Lineal Generalizado (GML) y para contrastar las diferencias significativas entre tratamientos se aplicó el test por diferencias de mínimos cuadrados (LSD).

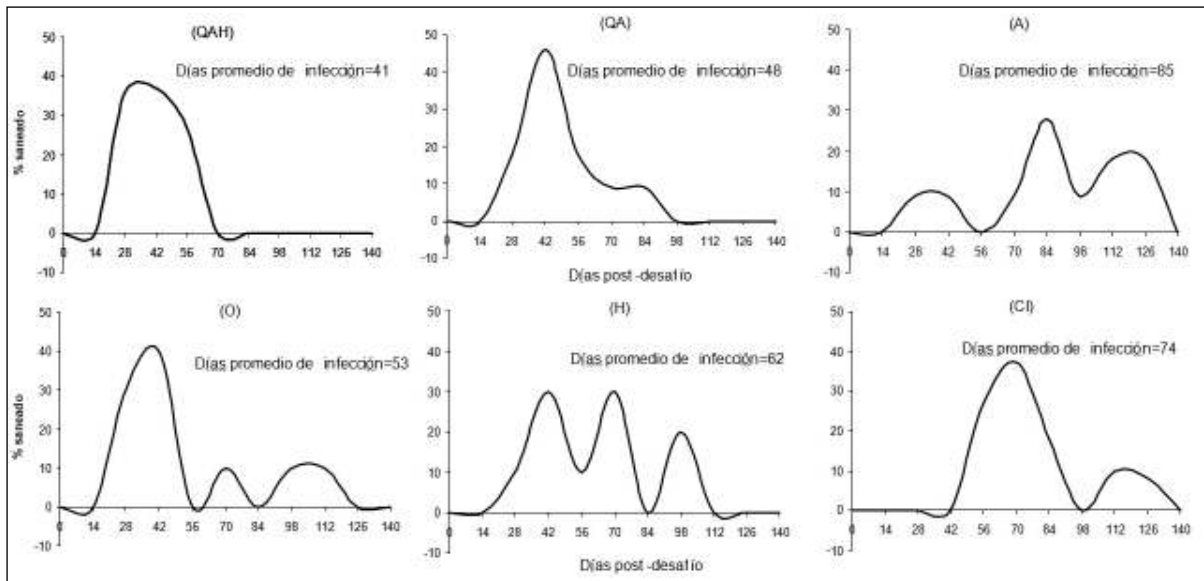


Gráfico 1: Porcentajes de animales vacunados con vacunas de *T. foetus* con diferentes adyuvantes que se liberaron de la infección: (QAH) Quil A-Hoalgel, (O) Oleosa, (QA) Quil A, (H) Hoalgel, (A) Arqueosomas y (CI) control I

RESULTADOS

Duración de la Infección

En el gráfico 1 se observa la duración de la infección genital en los animales de cada grupo. Todos los animales resultaron positivos en el cultivo de MCV en el muestreo de los 14 días pd. Todos los animales del grupo CI (control infección) permanecieron positivos hasta el día 42 pd. A partir de esta fecha comenzaron a liberarse de la infección, pero 2/11 (18%) de los animales permanecieron infectados hasta el final del ensayo (día 98 pd)

Las vaquillonas pertenecientes al grupo QAH fueron las primeras en liberarse totalmente de la infección al día 56 pd. Se registraron animales

libres de la enfermedad a partir del día 28 pd (4/11). El 37 % de las vaquillonas restantes se liberó de la infección en el periodo que va desde los 28 días pd hasta los 42 días pd (Gráfico 1).

Por otra parte, los animales de los grupos QA y H lograron liberarse de la infección, mientras que el resto de los grupos permanecieron con animales infectados hasta el final del ensayo.

Respuesta inmune humoral

Todos los animales de los grupos experimentales presentaron Valores Elisa (VE) mayores a los del CI ($p < 0,05$) (Tabla 1).

Las vaquillonas inmunizadas generaron anticuerpos séricos a los 21 días post 1^o dosis de vacuna siendo más elevados los niveles logrados en los animales de los grupos QA, QAH y O. Los mismos tuvieron diferencias estadísticas con respecto a los grupos H y A ($p < 0,05$) (Tabla 1). Similar tendencia aunque con VE superiores se obtuvieron a los 21 días post 2^o dosis subcutánea.

Tabla 1: VE séricos promedio a IgG en vaquillonas controles y vacunadas.

Días pppv	-53	-33	-13	0	14	28	42	56	70	84	98
Grupo QA	0,27 a	1,55 c	1,67 e	1,52 de	1,49 d	1,52 cd	1,48 c	1,43 c	1,23 ab	1,43 cd	1,28 a
Grupo H	0,20 a	0,79 b	1,02 bc	0,89 b	0,90 ab	1,24 bc	1,10 abc	0,99 abc	1,14 ab	1,04 abc	0,72 a
Grupo QAH	0,33 ab	1,35 c	1,50 de	1,29 cd	1,37 cd	1,45 cd	1,40 bc	1,09 bc	1,09 a	1,03 ab	1,03 a
Grupo O	0,26 a	1,53 c	1,61 de	1,58 e	1,53 d	1,62 d	1,43 bc	1,44 c	1,73 c	1,56 d	1,30 a
Grupo A	0,52 b	0,85 b	0,88 b	0,89 b	1,11 bc	1,26 c	1,41 bc	1,25 bc	1,05 a	0,85 a	1,41 a
Grupo CI	0,23 a	0,41 a	0,38 a	0,47 a	0,64 a	0,73 a	0,73 a	0,63 a	1,57 bc	0,85 a	0,75 a

Letras diferentes implican diferencias significativas a $\alpha = 0,05$

Tabla 2: VE promedios de IgA en MCV de vaquillonas controles y vacunadas con vacunas de *T. foetus* con distintos adyuvantes.

Días ppdv	-53	-33	-13	0	14	28	42	56	70	84	98
Grupo QA	0,22 ab	0,20 ab	0,17 a	0,11 a	0,45 c	0,88 b	0,93 c	0,96 bc	0,96 a	0,82 a	0,95 a
Grupo H	0,16 ab	0,13 a	0,21 a	0,20 a	0,24 ab	0,73 ab	0,84 abc	1 c	0,71 a	0,96 a	0,94 a
Grupo QAH	0,24 b	0,22 ab	0,27 a	0,22 a	0,33 bc	0,98 b	0,94 c	0,97 c	0,96 a	0,92 a	0,97 a
Grupo O	0,20 ab	0,18 ab	0,25 a	0,28 a	0,15 a	0,91 b	0,93 bc	0,85 abc	0,90 a	0,92 a	1,07 a
Grupo A	0,21 ab	0,4 ab	0,29 a	0,27 a	0,19 ab	0,53 a	0,65 a	0,73 ab	0,71 a	0,91 a	0,88 a
Grupo CI	0,11 a	0,16 a	0,19 a	0,15 a	0,11 a	0,55 a	0,70 ab	0,67 a	0,84 a	0,82 a	0,86 a

Letras diferentes implican diferencias significativas a $\alpha=0.05$

Los VE post desafío de los grupos QA, QAH y O continuaron siendo más elevados y diferentes estadísticamente de los demás grupos ($p < 0,05$). Dicha tendencia se atenúa y comienza a desaparecer a los 42 días pd, momento en el cual desaparecen las diferencias estadísticas en la mayoría de los grupos (a excepción del grupo CI que sigue con diferencias estadísticas con respecto a los demás grupos).

Respuesta inmune en mucus cérvico vaginal

Los VE promedios en MCV (IgA) fueron bajos en todos los grupos de animales vacunados sin diferencias significativas entre ellos ni con el grupo CI en los muestreos post-vacunación (Tabla 2). Entre los días 14 y 28 pd los niveles de IgA aumentaron en todos los animales vacunados y en el grupo CI. Los animales de los grupos QA, QAH y O tuvieron diferencias con respecto a los animales del grupo CI ($P < 0,05$) pero fueron similares entre sí. Los animales del grupo A se comportaron de forma similar al grupo CI a lo largo de los sucesivos muestreos. Los grupos QA, QAH y O tuvieron los mayores valores de VE entre los días 28 y 56 días pd con diferencias con respecto al CI ($p < 0,05$) pero sin diferencias entre sí (Tabla 2).

DISCUSIÓN

Al analizar los resultados obtenidos, podemos decir que la mayoría de las vacunas experimentales a célula entera tuvieron efecto logrando un acortamiento en el tiempo de infección de los animales, aunque en ningún caso se logró evitar la misma. Estos datos coinciden con los trabajos realizados por otros autores que no lograron evitar la colonización del parásito (Campero, 1998;

Kvaniscka, 1989, Campero, 1999). El grupo CI permaneció con animales infectados hasta finalizar el ensayo, coincidiendo con los hallados por otros autores (Campero y col, 1998; Fort y col 2004, Riccio y col 2008)

La vacuna que mejor funcionó fue la formulada con el adyuvante Quil A e hidróxido de aluminio liberando a los animales de la infección al día 56 pd.

Si tenemos en cuenta que las pérdidas fetales ocasionadas por esta enfermedad se producen en el periodo que va desde los 70 a los 90 días post-servicio (Parsonson, 1976) la aplicación de esta vacuna permitiría que las vaquillonas estuvieran libres de la enfermedad al momento del servicio.

Es interesante destacar que en los otros dos grupos experimentales donde los animales lograron liberarse de la infección fueron los grupos en los que se utilizaron el Quil A y el hidróxido de aluminio por separado en la formulación de las vacunas. El hidróxido de aluminio es un adyuvante relativamente débil que principalmente induce respuesta humoral y casi ninguna respuesta celular. Su efecto básico es la adsorción del antígeno (Brunner et. al., 2010). El Quil A es una saponina extraída del árbol *Quillaia saponaria* que induce fuerte respuesta, tanto humoral como celular, siendo la primera la más destacada (Demana, et. al., 2004). Esta combinación entre adyuvantes puede haber logrado combinar la respuesta débil del hidróxido con la respuesta fuerte del Quil A provocando una marcada respuesta de anticuerpos IgG, mucho más potente que si se utilizaran los adyuvantes por separado, permitiendo de esta manera la liberación de la tricomonosis experimental en todos los animales de este grupo de un modo más rápido y efectivo

Los trabajos realizados en *T. foetus* por lo

general han utilizado adyuvantes oleosos para el preparado de sus vacunas (Campero, 1999, Cobo, 2002, Riccio, 2008) por lo que no podemos comparar con ellos nuestros resultados en cuanto al efecto provocado por el adyuvante. Debemos destacar, sin embargo, que estas vacunas indujeron principalmente respuesta del tipo IgG al igual que en nuestro trabajo. Asimismo, Corbeil y col (2001) utilizaron vacunas formuladas con el adyuvante Quil A, las cuales fueron aplicadas de modo subcutáneo e intravaginal. Obtuvieron buenos resultados tanto en la producción de IgG como en la liberación de la infección a *T. foetus*.

Existen antecedentes sobre la utilización de la combinación de los adyuvantes Quil A e hidróxido de aluminio en la formulación de vacunas contra otras enfermedades como son la hidatidosis (Lightowers, 2004) o la vacuna comercial de BVD (Pfizer Animal Health, 2004) También se utilizó una vacuna recombinante con resultados promisorios usando este adyuvante para el control de *Taenia multiceps* en ovejas. Sin embargo no se ha utilizado aún dicha combinación en lo que a tricomonosis se refiere.

La respuesta inmune sistémica fue mayor en los animales vacunados que en los del grupo CI hasta el desafío ($p < 0,05$) Casi todas las vacunas (excepto la del grupo O) tuvieron su mayor incremento de anticuerpos séricos luego de la segunda dosis vacunal, coincidiendo estos datos con los obtenidos por otros autores (Kvasnicka, 1992; Campero, 1998; Riccio, 2008)

La vacuna aplicada a las vaquillonas del grupo A no tuvo buenos resultados, ya que permaneció con 4 animales positivos al finalizar el ensayo, comportándose de modo similar al CI. La formulación de vacunas utilizando arqueosomas como adyuvantes sólo han sido probados en roedores (Gonzalez y col, 2009) hasta el momento. En este trabajo, se aplicó por primera vez a vaquillonas por lo que es necesario realizar más estudios al respecto para determinar su real efecto en grandes animales.

La aplicación de la vacuna que contenía el adyuvante oleoso (Grupo O) no logró que la totalidad de los animales se liberaran de la infección quedando con un 10 % de animales positivos al momento de concluir el ensayo

Los grupos QA, QAH y O son los que mayor respuesta inmune a IgG presentaron. Los grupos QA

y O mostraron VE similares entre sí, en cambio la respuesta de los animales del grupo QAH se diferencia estadísticamente de éstos y de los demás grupos ($p < 0,05$). Este aumento de la respuesta a IgG del grupo QAH refleja el incremento de la inmunidad proporcionado por la vacuna, lo que ayudó a la rápida liberación de los animales a la infección causada por *Tritrichomonas foetus*.

El refuerzo vacunal intravaginal aplicado a las vaquillonas no generó inmunidad local en ninguno de los grupos vacunados. Si bien todos los grupos vacunados presentaron VE mayores a los del grupo CI, las diferencias no resultaron estadísticamente significativas. Estos datos no coinciden con los hallados por Cobo y col (Cobo, 2004) que encontraron una buena respuesta local tras la aplicación de una tercer dosis intravaginal. Los resultados publicados por Riccio y col (2008) también muestran un aumento en los niveles de anticuerpos séricos tras la aplicación de un refuerzo intravaginal.

BIBLIOGRAFÍA

- BONDURANT, RH. 1997. Pathogenesis, diagnosis, and management of trichomoniasis in cattle. *Vet. Clin. of N. America: Food animal Practice* 13: 345-361
- BONDURANT, RH; CORBEIL, RR; CORBEIL, LB. 1993. Immunization of virgin cows with surface antigen TF1.17 of *Tritrichomonas foetus*. *Infect Immun.* 61: 1385-1394
- CAMPERO, C; ROSSETTI, O; MEDINA, D; BRETSCHNEIDER, G; ROPPEL, M. 1999. Inmunización en vaquillonas mediante vacuna de membrana de *Tritrichomonas foetus*. *Vet Arg.* 154: 250-262.
- CAMPERO, CM; CATENA, MC; MEDINA, D. 1986. Caldo infusión hígado para el cultivo de *Tritrichomonas foetus*. *Vet. Arg.* 3: 80-81.
- CAMPERO, CM; MEDINA, D; ROSSETTI, O; MARCOVECCHIO, F; COSENTINO, B; MARCONE, J; CARRACINO, M. 1998. Vacunación subcutánea e intravaginal contra tricomoniasis en vaquillonas. *Rev. Med. Vet.* 79: 347-353.
- COBO, ER; CANO, D; ROSSETTI, O; CAMPERO, CM. 2002. Heifers immunized with whole-cell and membrane vaccines against *Tritrichomonas foetus* and naturally challenged with an infected bull. *Vet. Parasitol.* 109:169-184
- GONZALEZ, R; HIGA L; CUTRULLIS, A; BILEN, M; MORELLI, I; RONCAGLIA, D; CORRAL, R; MORILLA, M;

- PETRAY, P; ROMERO, E. 2009. Archaesomes made up Halorubrum tebenquichense total polar lipids: a new source of adjuvancy. BMC Biotechnology 9:71. <http://www.biomedcentral.com/1472-6750/9/71>
- KVASNICKA, WG; TAYLOR, RE; HUANG, JC; HANKS, D; TRONSTAD, RJ; BOSOMWORT, A; HALL, MR. 1989. Investigations of the incidence of bovine trichomoniasis in Nevada and of the efficacy of immunizing cattle with vaccines containing *Trichomonas foetus*. Theriogenology 31: 963-971.
 - OIE 2006. Manual de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los Animales Terrestres. Disponible en URL: http://www.oie.int/esp/normes/mmanual/e_summry.htm, actualizado en 2008.
 - REINMANN K, MÜLLER N, KUHNERT P, CAMPERO CM, LEITSCH D, HESS M, HENNING K, FORT M, MÜLLER J, GOTTSTEIN B, FREY CF. 2012. *Trichomonas foetus* isolates from cats and cattle show minor genetic differences in unrelated loci ITS-2 and EF-1 α . Vet Parasitol.30;185(2-4):138-4
 - BRUNNER, R; JENSEN-JAROLIM, E; PALI-SCHÖLL, I. 2010. The ABC of clinical and experimental adjuvants— A brief overview. Immunol Lett.18; 128(1): 29–35.
 - DEMANA PH, FEHSKE C, WHITE K, RADES T, HOOK S.2004. Effect of incorporation of the adjuvant Quil A on structure and immune stimulatory capacity of liposomes. Immunol Cell Biol. ;82(5):547-54.
 - CORBEIL, LB; BONDURANT, R. 2001. Immunity to bovine reproductive infections. Vet. Clin. of N. America: Food Animal Practice. 17: 567-583.
 - RICCIO, MB; ACHILLES, ME; CANO, D; LAZARO, L; CANO, A; CAMPERO CM. 2008. Respuesta inmune humoral en vaquillonas vacunadas contra *Trichomonas foetus* y desafiadas con toros infectados. Rev. Vet. 19: (2) 101-108
 - LIGHTOWLERS, MW; HEATH DD. 2004. Immunity and vaccine control of *Echinococcus granulosus* infection in animal intermediate hosts. Parasitologia. 2004 46(1-2):27-31
 - PFIZER ANIMAL HEALTH. 2004. Next generation Prezent-A adjuvant system: Key to enhanced protection conferred by BVDV (Types 1 and 2) components of Cattle Master Gold Technical Bulletin.
 - KVASNICKA, WG; HANKS, D; HUANG, JC; HALL, MR; SANDBLOM, D; CHU, HJ; CHAVEZ, L; ACREE, WM. 1992 Clinical evaluation of the efficacy of inoculating cattle with a vaccine containing *Trichomonas foetus*. Am. J. Vet. Res. 53: 2023-2027.
-

Rojas, M.¹; Perez, L.²; Esaín, F.²; Fort, M.¹¹ EEA INTA Anguil Ruta Nac. 5 Km 580. CC 11 (6326) Anguil - La Pampa- Argentina² Laboratorio Santa Rosa, Av Uruguay 1058, Santa Rosa - La Pampa- Argentina

Principales agentes infecciosos involucrados en las pérdidas reproductivas del ganado bovino en la región semiárida Pampeana. Casuística 2004-2011

INTRODUCCIÓN

Una de las principales causas que ocasionan bajos índices de destete en la zona de cría bovina lo constituyen las enfermedades infecciosas. Dichas pérdidas contemplan desde el aborto (muerte embrionaria y/o fetal) hasta la pérdida del ternero a los pocos días de vida. Una correcta identificación del agente causal constituye una herramienta esencial que nos permitirá implementar medidas de control y prevención adecuadas. Las pérdidas reproductivas atribuidas a agentes infecciosos pueden variar según la región, considerando fundamentalmente condiciones agroecológicas, sistemas de producción, prácticas de manejo y programas de vacunación. Múltiples factores condicionan un correcto diagnóstico etiológico del aborto bovino (tiempo transcurrido desde su hallazgo, grado de contaminación, tipo y volumen del material enviado, etc.). Esto queda de manifiesto considerando que en experiencias a nivel nacional solo se logra un éxito parcial en cuanto a identificación del agente causal (Draghi et al., 2007, Morrell et al., 2008, Campero et al., 2003). Por lo tanto, el presente trabajo tiene como objetivo identificar las principales causas infecciosas de pérdidas reproductivas en el ganado bovino, para de esta manera establecer medidas de prevención y control apropiadas a la región de cría semiárida Pampeana.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para llevar a cabo el presente trabajo se utilizaron fetos y/o muestras de fetos, ingresados a un laboratorio privado de diagnóstico regional, correspondiente a rodeos ubicados en la región del caldenal pampeano. Se estableció un período de muestreo de 8 años, comenzando en enero del 2004 para finalizar en Diciembre del 2011. Previo a realizar la necropsia se tomó la medida cráneo-caudal, con el objetivo de estimar la edad del aborto. En algunos casos se procesaron solo muestras parcializadas que los veterinarios recolectaron mediante necropsia en el propio establecimiento. Los fetos y/o terneros nacidos fueron clasificados de acuerdo a la edad gestacional en función del Comité de Nomenclatura de Reproducción Bovina (1972). Se consideró aborto como a la expulsión de un feto no viable entre los 42 y 260 días de gestación, *parto prematuro* a la eliminación del concepto (viable o no) cuya edad varía desde el día 260 de preñez hasta el final de la misma, en tanto que *natimortos* a aquellos nacimientos de terneros a términos muertos y por último a *pérdidas neonatales* a todas aquellas ocurridas desde el nacimiento hasta los primeros 28 días de vida. También se consideraron los protocolos que ingresaron con muestras parciales (órganos, contenido abomasal, suero fetal, etc.), enviadas al laboratorio por veterinarias de la actividad privada.

Se consideró causa infecciosa (virus/bacterias) cuando se identificó algún agente en tejidos fetales y/o contenido abomasal. El diagnóstico de *Neospora caninum* (*N. caninum*) se realizó mediante técnicas histológicas, así como la presencia de serología fetal positiva. Para cultivo bacteriológico de agentes aerobios y microaerófilos se tomaron muestras de pulmón y líquido del abomaso que se cultivaron en medios y atmósferas adecuadas. Para el diagnóstico de los virus de la Rinotraqueítis Infecciosa Bovina (IBR) y la Diarrea Viral Bovina (DVB) se obtuvieron muestras de riñón, tiroides, hígado y pulmón, las cuales fueron procesadas mediante cortes histológicos con criostato en los que se realizó Inmunofluorescencia directa (IFD) con conjugados específicos. El Líquido abomasal se utilizó para el cultivo de *Tritrichomonas foetus* e IFD para el diagnóstico de *Campylobacter sp.* También, se realizaron improntas de hígado, riñón y/o humor acuoso para el diagnóstico de *Lepstospira sp.* por IFD. Finalmente, se recolectaron muestras del sistema nervioso (SNC), pulmón, corazón, hígado, riñón, tiroides, bazo, linfonódulos, músculo esquelético y placenta (cuando fue posible), las

que se fijaron en formol bufferado al 10% para ser procesadas posteriormente mediante técnicas de análisis histopatológico.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A lo largo de ocho años de estudio se procesaron un total 251 casos, los cuales correspondieron al 79% a fetos abortados, 1.7% a partos prematuros, 16% a Natimortos, 2.6% a pérdidas neonatales y por último el 6.8% correspondieron a muestras de abortos tomadas por veterinarios de la actividad privada y enviadas al laboratorio de diagnóstico (tabla 1). En el 62% (155) del total de muestras se identificó el agente etiológico causal. El mayor porcentaje de casos analizados corresponde a la categoría de abortos, seguido por los natimortos. En la siguiente tabla se detalla el porcentaje de casos de acuerdo a la categoría de clasificación, así como el porcentaje para cada categoría en las cuales se logró determinar el agente causal.

En cuanto a aquellos casos clasificados como **fetos abortados**, las causas de origen bacteriano fueron las de mayor prevalencia (30.1%), seguido

Tabla 1: Eficiencia en el diagnóstico según criterio de estudio analizado.

Criterios de clasificación	Total de protocolos analizados	Con diagnóstico positivo	Porcentaje de casos identificados
Fetos abortados	186 (79%)	118	63%
Partos prematuros	4 (1.7%)	1	25%
Natimortos	38 (16%)	24	63%
Pérdidas neonatales	6 (2.6%)	4	67%
Muestras parciales	17 (6.8%)	8	47%
Total de muestras	251	155	62%

Tabla 2: Total de casos analizados según categoría y agente etiológico hallado.

Clasificación	Total	IBR (%)	DVB (%)	C. sp. (%)	B. a. (%)	L. sp. (%)	O. bact (%)	N.c. (%)
Fetos abortados	186	5.4	8.1	7.5	7.5	8.6	6.5	18.8
Partos prematuros	4	0.0	0.0	0.0	0.0	25.0	0.0	0.0
Natimortos	38	5.3	10.5	0.0	5.3	18.4	10.5	13.2
Pérdidas neonatales	6	16.7	16.7	0.0	0.0	16.7	16.7	0.0
Muestras parciales	17	5.9	5.9	5.9	5.9	17.6	0.0	5.9

Referencias: C.sp.: *Campylobacter s.p.*; B.a.: *Brucella abortus*; L.sp.: *Leptospira s.p.*; O.bact.: Otras bacterias; N.c.: *Neospora caninum*.

por las parasitarias (18.8%) y por último las de origen viral (13.5%). En el primer caso se halló la presencia de *Leptospira sp.*, *Brucella abortus* y *Campylobacter sp.* así mismo se aislaron diferentes agentes bacterianos oportunistas como causales de aborto. En tanto que *N. caninum* fue el único agente parasitario hallado en los casos analizados. Por último los agentes virales descriptos estuvieron asociados a la presencia de DVB e IBR (tabla 2). Otra de las categorías que se presentó con mayor frecuencia fueron los **natimortos**, identificando causas de origen bacteriano en un 34.2%, parasitarias 13.2% y virales en un 15.8% (tabla 2). Todos los cultivos a *T. foetus* resultaron negativos y en ningún caso se constató la presencia de hongos y/o micotoxinas como causales de abortos.

Como se observa en el cuadro la mayoría de los casos recepcionados por el laboratorio corresponden a abortos o natimortos. Es muy probable que la escasa recepción de casos de pérdidas neonatales fundamentalmente y en menor proporción casos de prematuros, se deba a que estos están asociadas a partos distócicos. Dentro de los causales de aborto, *N. caninum* (18,8%) fue el agente etiológico de mayor prevalencia, seguido por *Leptospira sp.* (8.6%). Así mismo, ambos agentes fueron los de mayor prevalencia para la categoría natimortos, pero con presentación inversa a la descripta (*Leptospira sp.* (18.4%) y *N. caninum* 13,2%). Finalmente podemos afirmar que las pérdidas debidas a estos dos agentes fueron significativamente las de mayor importancia halladas en el presente trabajo. Para el caso de las pérdidas de prematuros y neonatales no se puede realizar mayor comparaciones debido a la escasa recepción de casos. Sin embargo es importante destacar que del total de muestras recibidas (10) el 50% fue debido a alguno de los agentes estudiados. Esto enfatiza la importancia del diagnóstico en esta categoría de pérdidas reproductivas.

CONCLUSIÓN

Este trabajo aporta información sobre las causas de pérdidas reproductivas ocasionadas por agentes patógenos en los rodeos de la provincia de La Pampa. La utilización en conjunto de diferentes técnicas de diagnóstico resulta la clave para mejorar la eficiencia de diagnóstico. La

mayoría de los fetos abortados correspondieron al segundo y tercer trimestre de gestación, quedando fuera de este estudio las enfermedades que se presentan en el primer tercio de la gestación. Cabe esperar un subdiagnóstico para esta etapa, justificando en parte la ausencia de *T. foetus*. Este trabajo permitió detectar a *Leptospira sp.* y *N. caninum* como los agentes infecciosos más frecuentemente diagnosticados. Por los resultados del presente trabajo podemos concluir que las condiciones semiáridas de la región pampeana en estudio no resulta ser un impedimento para la presentación de casos por Leptospirosis. Por otro lado, el porcentaje de caso con hallazgo positivo descriptos en el presente trabajo, son concordantes con los reportados a nivel nacional por otros autores. El trabajo en conjunto de veterinarios de campo, laboratorios de diagnóstico e institutos de investigación y extensión resulta imprescindible para aumentar la eficiencia del diagnóstico. La obtención de información epidemiológica, clínica y la recolección de muestras de buena calidad y su correcto acondicionamiento, así como el envío al laboratorio, son cruciales para arribar a un diagnóstico final correcto.

BIBLIOGRAFÍA

- Campero, C.M.; Moore, D.P.; Odeón, A.C.; Cipolla, A.L.; Odriozola, E. 2003. Aetiology of bovine abortion in Argentina. *Veterinary Research Communications* 27(5): 359-369
- Committee on Bovine Reproductive Nomenclature. 1972. Recommendations for standardizing bovine reproductive nomenclature. *Cornell Veterinary Medicine* 62: 216-237.
- Draghi, M.G.; Soni, C.A.; Beckwith, B.; Zurbriggen, M.A.; Homse, A.C.; Rochinotti, D.; Rizzi, C.A.; Alcaraz, E.L.; Caspe, S.G.; Ramírez, J.C.; Pereira, M.; Biotti, G.M.; Ramírez, L.M.; Sosa, C.G. 2007. Estudio de las principales causas de mortalidad perinatal en bovinos en el Nordeste Argentino. Serie Técnica N° 40. E.E.A. Mercedes, INTA. ISSN 0327/3075.
- Morrell, E.L.; Moore, D.P.; Odeón, A.C.; Poso, M.A.; Odriozola, E.; Cantón, G.; Paolicchi, F.; Malena, R.; Leunda, M.R.; Morsella, C.; Campero, C.M. 2008. Retrospective study of bovine neonatal mortality: cases reported from INTA Balcarce, Argentina. *Revista Argentina de Microbiología* 40:151-157

Avances sobre el conocimiento en Chlamydias en los rodeos bovinos de la provincia de La Pampa

INTRODUCCIÓN

Las infecciones por clamidias en los rumiantes pueden cursar de manera clínica como aborto (Borel et al., 2006), poliartritis (Storz et al., 1966; Twomey et al., 2003), encefalomiелitis (McNutt y Waller, 1940), queratoconjuntivitis (Otter et al., 2003), neumonía (Wilson y Thomson, 1968), enteritis (Doughri et al., 1974), hepatitis (Reggiardo et al., 1989), vaginitis y endometritis (Wittenbrink et al., 1993 a, b), infertilidad (Desgraves et al., 2004; Wehrend et al., 2005) y mastitis crónica (Biesenkamp-UHE et al., 2007). Son escasas las evidencias de que las clamidias pueden ser de transmisión sexual, si bien su presencia en órganos genitales de machos, generando epididimitis, orquitis y vesícula seminal fue descrita para la década del 60' (Ball et al., 1964, Storz et al., 1968).

Datos epidemiológicos que indican infecciones en rumiantes por las clamidias ocurren con frecuencia en todas partes del mundo (Reinhold et al., 2011). En nuestro país existen evidencias de que las clamidias son una problemática subdiagnosticada en los sistemas de producción (Rodríguez Fermepin et al., 1995, Venzano et al., 2008), en ese sentido la identificación de la causa resulta esencial permitiendo de esta manera implementar medidas de control y prevención adecuadas.

AGENTE ETIOLÓGICO

Las clamidias son bacteria gram-negativa, con un genoma muy pequeño (1,04-1,23 Mb), parásitas intracelulares obligadas capaces de infectar no solo vertebrados, algunas especies de artrópodo

dos y varias de amebas de vida libres (Corsaro y Venditti, 2004; Longbottom y Coulter, 2003) causando enfermedades tanto en animales como en humanos (Storz y Kaltenboeck, 1993). El orden Chlamydiales ha sido reclasificado varias veces en las últimas décadas, favorecido en parte por el uso de biología molecular sumado a la necesidad de identificar otros agentes infecciosos. La revisión más reciente ha llevado a la separación de la familia Chlamydiaceae en el género Chlamydophila y Chlamydia, con un total de nueve especies, *Chlamydophila (C) abortus*, *C. pecorum*, *C. psittaci*, *C. pneumoniae*, *C. felis*, *C. caviae*, y *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia suis* y *Chlamydia muridarum*. Sin embargo, esta división de la familia Chlamydiaceae en dos géneros ha sido criticado, y los esfuerzos están en marcha para combinar las nueve *Chlamydiaceae spp.* en un solo género Chlamydia (Stephens et al., 2009).

CICLO DE VIDA DE *Chlamydias sp.*

El género Chlamydias se presenta morfológicamente bajo dos tipos de formas a saber: una forma extracelular e infecciosa (cuerpo elemental) y una forma replicativa, metabólicamente activa (cuerpo reticular). Se multiplica por división binaria y comparte un mismo y único ciclo de crecimiento (Figura 1).

DIAGNÓSTICO

Si bien un diagnóstico presuntivo de la infección por clamidia puede hacerse sobre la base de la historia clínica, la confirmación requiere de técnicas sensibles. La detección serológica nos per-

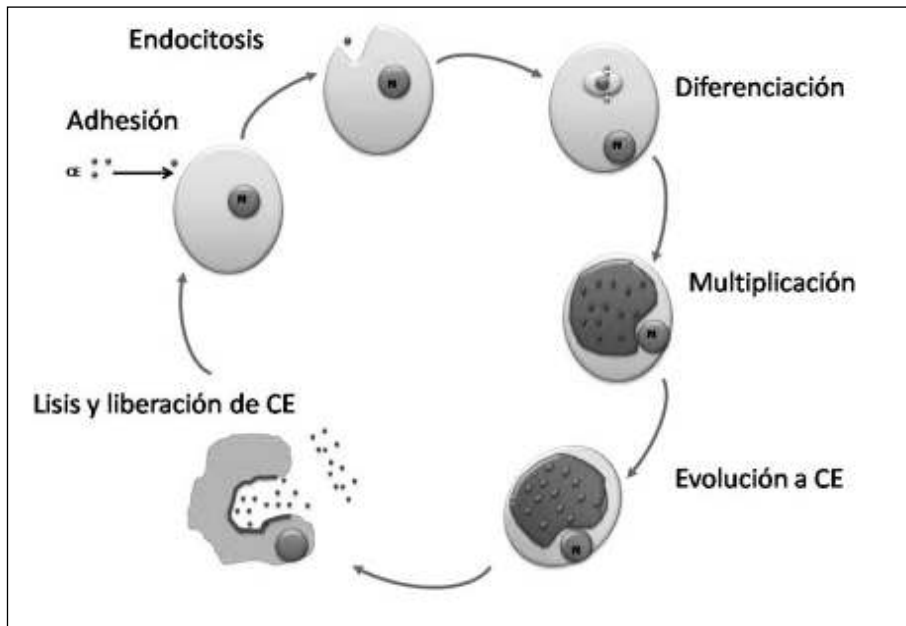


Figura 1. Esquema del ciclo de vida del género *Chlamydia*. En el primer paso, un cuerpo elemental (CE) se adhiere a la célula hospedadora, seguido por una endocitosis mediada por receptores. Ya en el interior de la célula dentro de la inclusión el CE evoluciona a cuerpo reticular (CR), comienza a dividirse por fisión binaria. En el cuarto paso los CR generados maduran a CE y se liberan de la inclusión para comenzar el ciclo.

mite estimar una prevalencia retrospectiva pero la infección por clamidia no provoca una respuesta inmunológica elevada para facilitar el diagnóstico inequívoco, sobre todo cuando son recientes. El método estándar para la detección de anticuerpos para *Chlamydiaceae* spp. en los animales es la prueba de fijación del complemento (FC), pero la sensibilidad es variable proporcionando falsos negativos. Numerosos métodos de ELISA también se utilizan pero son todos reactivos a “clamidias”, no existe en el mercado una técnica disponible capaz de diferenciar los anticuerpos a nivel de especies. La amplificación de ácidos nucleicos con técnicas moleculares (PCR, PCR Real Time, MicroArray) es fundamental para la identificación de diferentes especies de clamidias. Para este tipo de diagnóstico se requieren muestras frescas (fetos abortados, natimortos, hisopados de vacas vacías y abortadas, etc) acondicionadas para este fin.

DETECCIÓN DE *Chlamydomphila abortus* EN FETOS BOVINOS ABORTADOS EN LA PAMPA

La identificación del agente causal de pérdidas reproductivas fundamentalmente como abortos constituye una herramienta fundamental para la mejora de la eficiencia de los rodeos. Estudios realizados por Rojas y col. (en prensa) determinaron la prevalencia de diferentes agentes patógenos como causal de abortos en los rodeos de la provincia de La Pampa, consolidando de esta manera una herramienta fundamental de mejora

en la eficiencia de diagnóstico. Sin embargo, cabe mencionar, que todavía hoy existe un número importante de casos que no concluyen con un diagnóstico final del agente infeccioso actuante. Esta situación puede deberse a dos razones básicas y elementales, en primer lugar puede deberse a que aún no ha sido identificado el agente infeccioso por no contar con las herramientas de diagnóstico necesarias y en segundo lugar a una falta de estudios exhaustivos de otros posibles agentes intervinientes. En ese sentido la Estación Experimental del INTA Anguil en La Pampa, comenzó a investigar la presencia de clamidias como agentes infecciosos en rumiantes. Los primeros datos hallados corresponden a un análisis de muestras de tejidos de fetos abortados en La Pampa. Sobre un total de 250 muestras de tejidos de fetos abortados, 5 (2%) resultaron positivos a *Chlamydomphila abortus* (por PCR Real Time y MicroArray). En tres casos solo fueron positivos a *Chlamydomphila abortus*, pero en los dos casos restantes resultaron positivo a *Campylobacter sp.* y a *Neospora caninum*, respectivamente.

El impacto productivo ocasionado por las enfermedades producidas por las *Chlamydia*s en nuestros rodeos constituye hoy día un interrogante. Nuevos avances en técnicas de diagnóstico así como la búsqueda de dichos agentes frente a las distintas enfermedades que pueden ocasionar, constituye un desafío científico que debe cubrirse en un futuro inmediato.

BIBLIOGRAFÍA

- Corsaro D., Venditti D. (2004). Emerging chlamydial infection. *Crit. Rev. Microbiol.* 30:75–106.
- Longbottom, D., Coulter L. (2003). Animal chlamydioses and zoonotic implications. *J. Comp. Pathol.* 218:217–244
- Storz J., Kaltenboeck B. (1993). Diversity of chlamydia-induced diseases. In: Woldehiwet Z., Ristic M. (Eds.), *Rickettsial and Chlamydial Diseases of Domestic Animals*. Pergamon Press, Oxford, UK, pp. 363–393
- Stephens R., Myers G., Eppinger M., Bavoil P. (2009). Divergence without difference: phylogenetics and taxonomy of *Chlamydia* resolved. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 55, 115–119.
- Reinhold P., Sachse K., Kaltenboeck B. (2011). Chlamydiaceae in cattle: Commensals, trigger organisms, or pathogens?. *The Veterinary Journal*, 189: 257–267.
- Borel N., Thoma R., Spaeni, P., Weilenmann R., Teankum K., Brugnera E., Zimmermann D., Vaughan L., Pospischil, A. (2006). Chlamydia-related abortions in cattle from Graubunden, Switzerland. *Veterinary Pathology* 43,702–708.
- Storz J., Smart R., Marriott, M., Davis, R. (1966). Polyarthrititis of calves: isolation of psittacosis agents from affected joints. *American Journal of Veterinary Research* 27, 633–641.
- Twomey D., Griffiths, P., Hignett, B., Martin, T. (2003). Suspected chlamydial polyarthrititis in a calf in the UK. *Veterinary Record* 152, 340.
- McNutt S., Waller E. (1940). Sporadic bovine encephalomyelitis. *Cornell Veterinarian* 30, 437–448.
- Otter A., Twomey D., Rowe N., Tipp J., McElligott, W., Griffiths, P., O'Neill P., (2003). Suspected chlamydial keratoconjunctivitis in British cattle. *Veterinary Record* 152, 787–788.
- Wilson M., Thomson R. (1968). Chlamydia pneumonia of calves. *Research in Veterinary Science* 9, 467–473.
- Doughri A., Yong S., Storz, J. (1974). Pathologic changes in intestinal chlamydial infection of newborn calves. *American Journal of Veterinary Research* 35, 939–944.
- Reggiardo C., Fuhrmann T., Meerdink G., Bicknell E. (1989). Diagnostic features of chlamydia infection in dairy calves. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 1, 305–308.
- Wittenbrink M., Schoon H., Bisping W., Binder A. (1993a). Infection of the bovine female genital tract with *Chlamydia psittaci* as a possible cause of infertility. *Reproduction in Domestic Animals* 28, 129–136.
- Wittenbrink M., Schoon H., Schoon D., Mansfeld R., Bisping W. (1993b). Endometritis in cattle experimentally induced by *Chlamydia psittaci*. *Journal of Veterinary Medicine B* 40, 437–450.
- DeGraves F., Kim T., Jee J., Schlapp T., Hehnen H., Kaltenboeck, B. (2004). Reinfection with *Chlamydia abortus* by uterine and indirect cohort routes reduces fertility in cattle preexposed to *Chlamydia*. *Infection and Immunity* 72, 2538–2545.
- Wehrend A., Failing K., Hauser B., Jäger C., Bostedt H. (2005). Production, reproductive, and metabolic factors associated with chlamydial seropositivity and reproductive tract antigens in dairy herds with fertility disorders. *Theriogenology* 63, 923–930.
- Biesenkamp-Uhe C., Li Y., Hehnen H., Sachse K., Kaltenboeck B. (2007). Therapeutic *Chlamydia abortus* and *C. pecorum* vaccination transiently reduces bovine mastitis associated with *Chlamydia* infection. *Infection and Immunity* 75, 870–877.
- Ball L., Griner L., Carroll E. (1964). The bovine seminal vesiculitis syndrome. *Am J Vet Res.* ;25:291-302.
- Storz J., Carroll E., Ball L., Faulkner L. (1968). Isolation of a psittacosis agent (*Chlamydia*) from semen and epididymis of bulls with seminal vesiculitis syndrome. *Am J Vet Res.*;29(3):549-55
- R Fermepín M., Ranea F., Samartino L., Decristofano M., Mestre M., Pereira J., Planes N., De Torres R. (1995). Evidencia serológica de la infección por *Chlamydia* spp. En bovinos y porcinos de la provincia de Buenos Aires. *Revista de Medicina Veterinaria* 79 (2): 97-100.
- Venzano A., Morris W., Craig M., Blanco Viera F., Lagomarsino A., Rodríguez Fermepín M, Funes D. (2008). Mortalidad perinatal en terneros por Chlamydiaceae. V Taller Internacional de Infecciones por *Chlamydia* en Humanos y Animales, del 27 al 29 de noviembre del 2008, Buenos Aires (Argentina).

Fecha de inicio de servicio: ¿en cuánto afecta una mala elección?

INTRODUCCIÓN

La producción de celos fértiles en los rodeos de cría es coincidente con la época de mayor producción forrajera de los campos, es decir, primavera. En un rodeo de cría donde las vacas pueden parir en un periodo más concentrado (servicio estacionado) será posible hacer coincidir la época de mayor producción de forraje con el servicio. En un servicio continuo tendremos un porcentaje variable de terneros nacidos fuera de época que nos dificultará un manejo ajustado de los requerimientos del rodeo y la disponibilidad del pasto.

Para que cada vientre críe un ternero por año, el servicio deberá realizarse cuando el campo produce la máxima oferta de pasto y en lo posible en un período no mayor de ochenta a noventa días para que los requerimientos nutricionales de las vacas integrantes del rodeo sean homogéneos. Por lo tanto, es condición necesaria para el logro de buenos porcentajes de preñez que coincidan animales con buen estado corporal (2.5 o superior, en la escala 1-5) y buena oferta forrajera (reservas de calidad y/o pastizales en activo crecimiento). Las hembras flacas son en general las que tienen mayor dificultad para preñarse (óvulos débiles o abortos).

La vaca gesta en un lapso de 280-285 días y a los 40-80 días del parto reinicia su ciclo sexual, repitiendo sus celos, término medio: cada 21 días. La eficiencia del servicio natural es del 60-80% de fertilidad por celos presentes. Las vacas cabeza de parición, antes de entrar al servicio pudieron haber tenido uno o dos celos, lo que las hace más fáciles de preñar dado que la fertilidad de los primeros celos es más baja.

Por todo lo anteriormente mencionado, podemos deducir que la mejor época de servicio no es necesariamente una fecha calendario (que es la que habitualmente se utiliza), sino la que concentra ambas condiciones (estado corporal aceptable y buena oferta forrajera). Ante las bajas preñeces promedio observadas en la provincia de La Pampa ($\pm 65\%$), se está realizando un estudio para determinar el impacto que tiene una adecuada elección de momento de servicio sobre el porcentaje de preñez de los rodeos.

En una primera etapa, se seleccionaron 1027 establecimientos provenientes de un encuestamiento realizado por el grupo de Sanidad Animal de la EEA Anguil (INTA) entre 2006 y 2008. Este contemplaba, entre otras cosas, si se realizaba servicio estacionado, fecha de inicio de servicio, fin de servicio, porcentaje de preñez, porcentaje de destete, presencia de venéreas.

Para evaluar de manera preliminar esta práctica, se tomó una sub muestra de 187 establecimientos de los departamentos de Atreucó y Guatraché. Todos ellos con servicio estacionado, con base forrajera principal "pastizal" y declarados sin presencia de venéreas durante el período encuestado. Estos fueron ubicados espacialmente para poder identificar el momento de inicio de actividad fotosintética en cada uno de ellos. Para ello, se utilizaron imágenes de NDVI quincenales provenientes del satélite MODIS. Se modelaron las curvas de evolución del NDVI en el año (similares a las curvas de productividad forrajera), se identificaron los inicios de estación de crecimiento y se contrastaron con las fechas de inicio de servicio declarados por estos establecimientos.

En esta primera aproximación, el momento

Tabla 1: Porcentaje de destete logrado según el intervalo inicio de estación de crecimiento – inicio de servicio implementado durante el período 2007-2008 en los departamentos de Atreucó y Guatraché.

Intervalo inicio estación crecimiento – inicio servicio (meses)	% destete	Desvio estandar
≤ 2	70	14
3	74	12
≥ 4	64	13

187 establecimientos con servicio estacionado no mayor a 5 meses de duración

óptimo de inicio de servicio estaría cercano a los 3 meses de iniciada la estación de crecimiento. Un servicio muy temprano o muy tardío respecto este momento estaría afectando el porcentaje de preñez del rodeo de cría. En el primer caso atribuible a la entrada de toros en un momento con un elevado número de vacas no ciclando aun, producto de una mala condición corporal (faltaría acumular materia seca). En el segundo caso, los pastizales

estarían perdiendo calidad y los requerimientos del rodeo de cría serían mayores, ya que las vacas estarían con terneros al pie muy grandes (tabla 1).

En la zona de estudio, el 90% de los productores comenzó su servicio entre los meses de octubre y noviembre (figura 1). Cuando se analiza el porcentaje de destete logrado según el mes de inicio de servicio, observamos que existen pocas diferencias en los destetes logrados entre los ser-

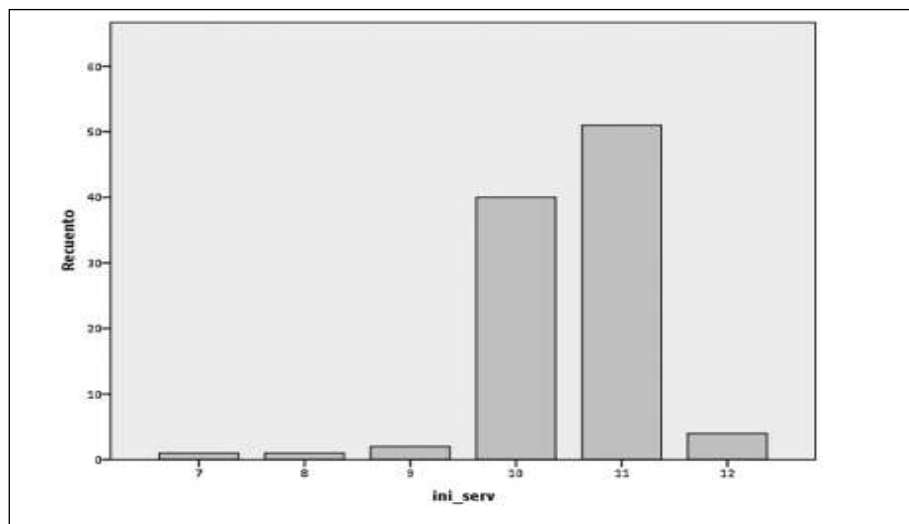


Figura 1: mes de inicio de servicio en rodeos bovinos de los departamentos Atreucó - Guatraché, expresado en frecuencia de productores (n=187)

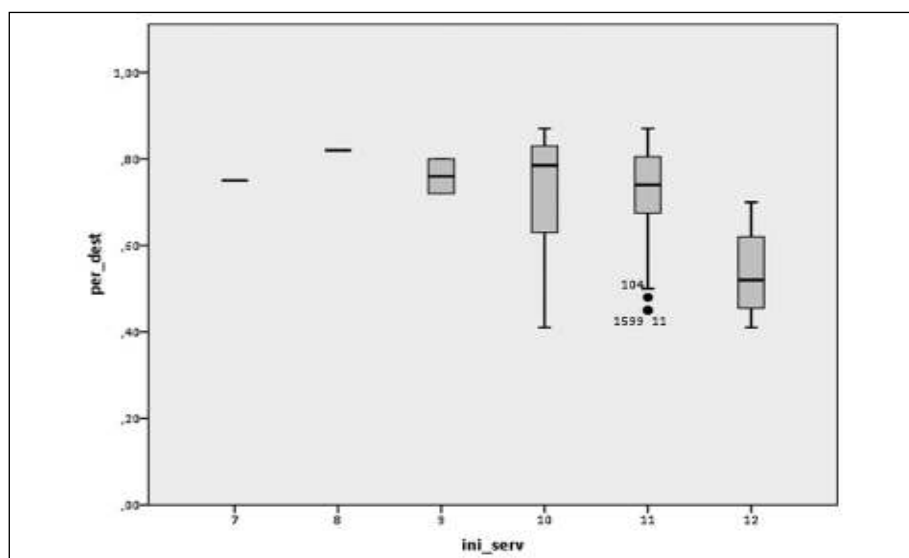


Figura 2: porcentaje de destete, según fecha de inicio de servicio seleccionada durante el período 2006-2008, logrados en los departamentos de Atreucó - Guatraché (n=187).

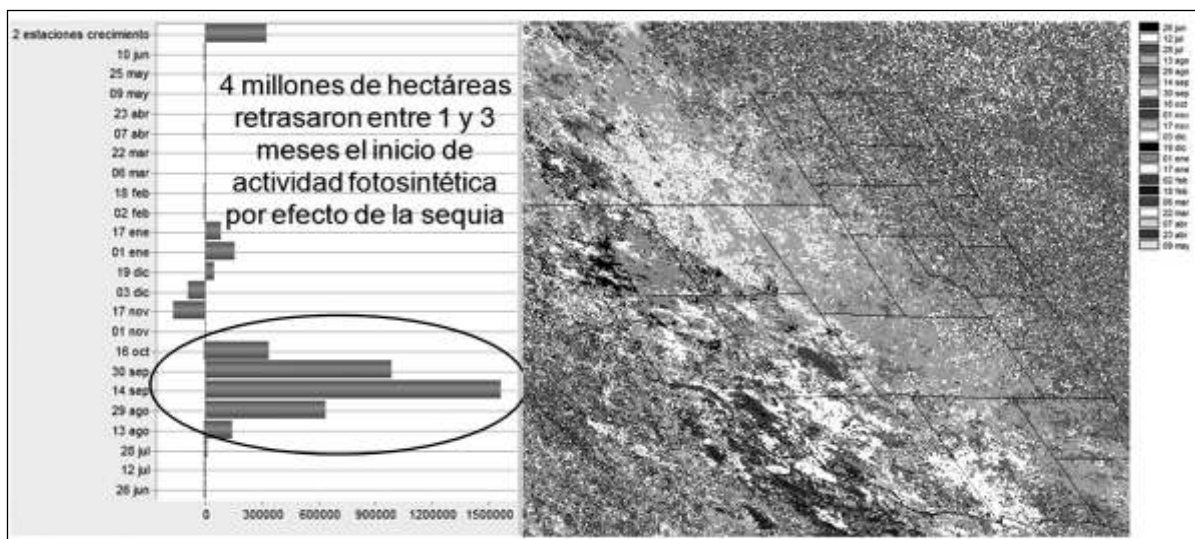


Figura 3: inicio de estación de crecimiento identificada a partir de imágenes MODIS durante el año 2006 en la provincia de La Pampa. El gráfico de barras a la izquierda del mapa indica la cantidad de hectáreas que retrasaron su inicio de estación de crecimiento durante la sequía del año 2009 al 1 de noviembre.

vicio comenzados entre julio y noviembre (figura 2). Queda evidenciado que son muy pocos productores los que inician servicio muy temprano, y cuando lo realizan están acompañados de un recurso forrajero invernal (verdeos).

Durante la sequía del año 2009, alrededor de 4 millones de hectáreas de pastizales retrasaron entre 1 y 3 meses su inicio de crecimiento. Esto significa que al 1º de noviembre, recién comenzaban a crecer los pastizales que debieron haber comenzado a producir entre agosto y octubre (figura 3). No sería adecuado seleccionar una fecha de inicio de servicio basada en el calendario bajo estas condiciones. A pesar que esta es una situación extrema, estas variaciones se pueden observar entre años.

Si bien este trabajo es una primera aproximación a esta inquietud, se observaron diferencias reproductivas diferenciales en función del momento que se seleccionó para iniciar el servicio y el estado de crecimiento de los pastizales en la zona este de La Pampa. Los resultados hallados en el presente trabajo demuestran que es muy importante adoptar un manejo flexible en cuanto a la época de servicio, condicionada fundamentalmente a la oferta forrajera y no optar por manejos estructurados que ocasionarían pérdidas en los porcentajes de preñez.

Estos resultados conducirán a realizar un estudio más detallado en este aspecto de manejo para el resto de la provincia.

Romero Harry, H.¹; Miranda, A.¹; Gauna, C.I.²; Trincheri, M.³; Minatel, L.⁴; Giménez, H.¹

1. INTA EEA Anguil

2. Laboratorio Zoetis

3. Médico Veterinario Actividad Privada

4. Cátedra de Patología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA

Caso reportado en bovinos de Síndrome Vestibular o Parálisis Facial en la provincia de La Pampa, Argentina

RESUMEN

Se denomina síndrome vestibular a un conjunto de signos asociados a la inflamación de los pares craneanos VII y VIII. Los signos más frecuentemente observados constituyen caída de una o ambas orejas, protrusión de lengua, desvío de cabeza, ptosis palpebral, queratoconjuntivitis y diferentes grados de incoordinación. Esta presentación fue reportada previamente en Argentina y en el mundo por otros autores fundamentalmente en sistemas de engorde intensivos. El presente caso se reporta en un lote de 70 terneros/as de destete de 160 kg. alojados en corrales de encierro, registrando una morbilidad y mortalidad del 28% (20) y 10% (7), respectivamente. El examen histopatológico reveló una meningitis fibrinosa multifocal leve y crónica con focos de necrosis licuefactiva. Estos resultados, sumado al cuadro clínico observado, la ausencia de lesiones producidas por otros agentes patógenos como posibles diagnóstico diferencial, así como la respuesta al tratamiento instaurado, permiten concluir que se trató de un caso de síndrome vestibular asociado a un proceso bacteriano de carácter crónico.

Palabras clave: síndrome vestibular, meningitis fibrinosa, mortandad de bovinos.

SUMMARY

Vestibular syndrome is called to a group of signs associated with inflammation of pairs cranial VII and VIII. One or both ears drops, tongue protrusion, head deviation, ptosis eyelid, keratoconjunctivitis and different grade of incoordination were the signs more frequently observed. This kind of presentation was reported previously in Argentina and the world by other researchers mainly associated to feedlots systems. This case was reported in a group of 70 calves weaned with 160 kilograms, with a morbidity and mortality of 28% (20) and 10% (7), respectively. Histopathological report revealed mild and chronic multifocal fibrinous meningitis with foci of necrosis liquefactive. This outcome and the symptoms clinical observed the absence of lesions caused by other pathogens as possible diagnostic differential and the response of treatment allow conclude that was a Vestibular Syndrome associated to chronic bacterial process.

Key words: vestibular syndrome, fibrinous meningitis, bovine mortality.

INTRODUCCIÓN

Se denomina síndrome vestibular o parálisis facial, reportado de esta manera previamente por Odriozola y col.(2009), a un conjunto de signos

asociados a la inflamación de los pares craneanos VII y VIII, que se presentan aislados o en forma conjunta. Los signos más frecuentes son caída de una o ambas orejas, protrusión de lengua, desvío de cabeza, ptosis palpebral, queratoconjuntivitis y diferentes grados de incoordinación. Los animales comienzan con rinitis, ulceraciones en mucosa nasal, exudado mucoso, tos generalmente seca y a veces productiva, temperatura de 40 a 41° C, disnea, babeo continuo y posición ortopneica. Estos signos aumentan a medida que la enfermedad se instala y si no son tratados a tiempo los animales pueden morir a causa de un cuadro de meningoencefalitis fibrino-purulenta irreversible. Por lo general afecta a terneros de destete que se encuentran en la etapa de recría en corrales de engorde. Morin (2004) describe los distintos agentes etiológicos que pueden llegar a producir signos similares. Este tipo de presentación fue descrita por el Servicio de Diagnóstico de Sanidad Animal del INTA Balcarce 11 y por el grupo de Sanidad Animal del INTA Anguil en el año 2005 (comunicación personal). Manusell y Donovan (2009) describieron casos similares en pequeños terneros de tambos en Estados Unidos.

El objetivo del presente trabajo es reportar un brote de síndrome vestibular en un rodeo de la provincia de La Pampa.

Descripción del brote

El brote se produjo en un lote de terneros destetados precozmente en diciembre de 2012, que pertenecían a un establecimiento de ciclo completo ubicado en cercanías de la ciudad de Santa Rosa, La Pampa. El establecimiento contaba con una existencia de 120 vacas que actuaban como proveedoras de terneros para el encierre a corral. A lo largo de los meses de enero y febrero, y como parte del plan sanitario, recibieron doble dosis de vacunas frente a enfermedades del complejo respiratorio bovino y enfermedades clostridiales, y una aplicación de antihelmínticos para el control de parásitos internos. Posteriormente (mes de marzo) se encerraron en corrales de engorde. A mediados de abril comenzaron a aparecer los signos y las primeras muertes. Al momento de la consulta el encierre de animales contaba con un total de 70 animales entre machos y hembras, registrando una mortandad del 10% (7 animales) y una morbilidad del 28% (20 animales). Aquellos



Figura 1: Cabeza inclinada, sialorrea y secreción ocular en uno de los animales afectados

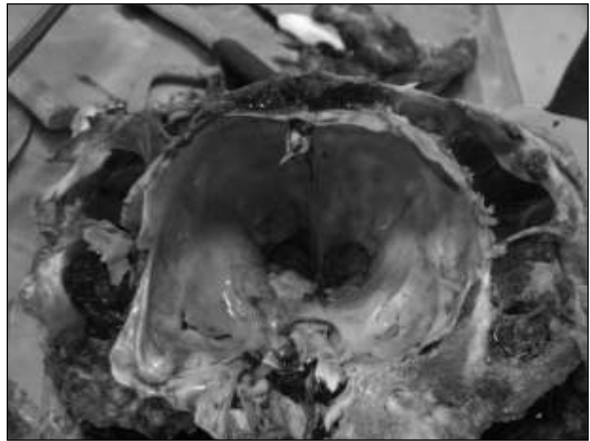


Figura 2: Exudado fibrino-purulento en meninges.

animales que habían presentado sintomatología hasta el momento de la visita al establecimiento recibieron, por indicación del veterinario, antibiótico tulatromicina, que tiene un período de permanencia en el parénquima pulmonar de 15 días.

Hallazgos de necropsia

Se realizó la necropsia a dos animales de 160 kg aproximadamente, que presentaban, antes de morir, un estado de caquexia, caída de orejas uni o bilateral, uveítis, queratoconjuntivitis, disnea y sialorrea (Figura 1), así como temperatura rectal (T^o) de 40° a 41°. En el sistema respiratorio se observaron erosiones en morro y congestión de cornetes nasales, laringe y tráquea. En el encéfalo se observó una leve congestión y un exudado gelatinoso de color amarillento, ubicado entre la

cavidad craneana y la masa encefálica (Figura 2), así como pequeñas hemorragias multifocales en encéfalo. Los demás órganos no presentaban lesiones macroscópicas aparentes.

Estudios complementarios

Se realizó cultivo en agar sangre de muestras de líquido cefalorraquídeo (LCR), linfonódulo retrofaríngeo, oído externo y medio, y parénquima pulmonar. Por otro lado se realizaron hisopados de los mismos órganos, que fueron colocados en medios especiales para aislamiento de *Mycoplasma bovis*. También se tomaron muestras de encéfalo para análisis histopatológico, las cuales fueron procesadas mediante técnicas histológicas de rutina para su inclusión en parafina, obteniéndose cortes de 5 μ de espesor que fueron coloreados con hematoxilina y eosina.

Con el objetivo de evaluar seroconversión para rinotraqueítis infecciosa bovina (IBR) y diarrea viral bovina (DVB), así como de realizar un análisis más detallado del brote, se conformaron dos grupos utilizando como criterio de clasificación presencia y ausencia de signos clínicos. Se conformaron de esta manera un grupo clasificado como “con signos” (CS) y otro grupo como “sin signos” (SS), utilizando 17 y 10 animales para cada uno, respectivamente. Confeccionados los grupos, se tomaron muestras de sangre para realizar hemogramas y temperatura rectal (T°) de todos los animales (día 0). El grupo CS recibió tratamiento, que consistió en un antiinflamatorio no esteroide y un antibiótico de larga acción. Catorce días posteriores a la primera visita al establecimiento se tomaron nuevamente muestras de sangre y temperatura rectal, a fin de realizar un estudio pareado de parámetros sanguíneos y serológicos.

Examen histopatológico

En el encéfalo de ambos animales se observó congestión de los vasos sanguíneos meníngeos, con un ligero a moderado edema de meninges y un leve a moderado infiltrado de macrófagos, algunos de ellos con eritrocitos fagocitados. Algunos sectores presentaban una escasa cantidad de exudado, compuesto por escasa cantidad de fibrina, macrófagos, algunos neutrófilos y linfocitos (Figura 3). En la luz de algunos vasos sanguíneos se encontró una baja cantidad de leucocitos (principalmente neutrófilos). Varias neuronas

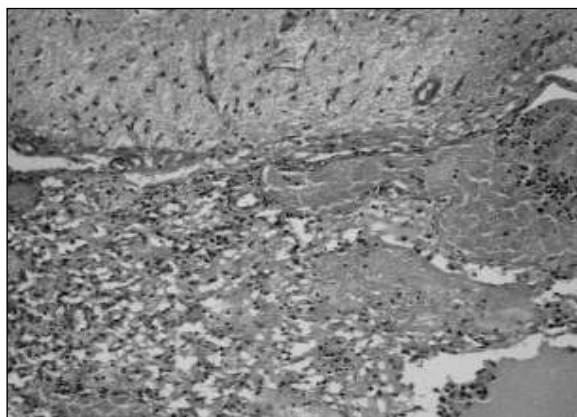


Figura 3: Meningitis fibrinosa (H&E)

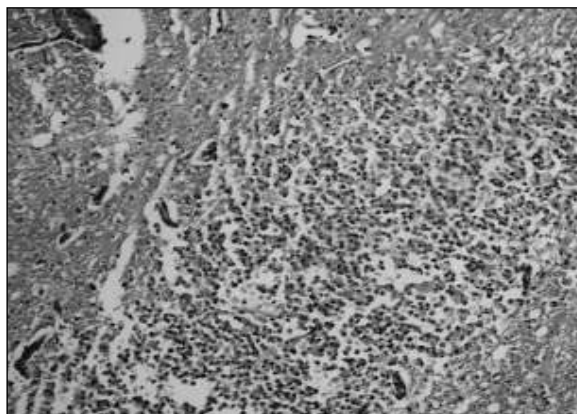


Figura 4: Foco de necrosis licuefactiva en mesencéfalo (H&E)

corticales presentaban cromatolisis central. Algunos vasos sanguíneos de la sustancia gris periventricular tenían pequeñas hemorragias perivasculares, con leve edema del neuropilo adyacente. Se observó edema de la mielina de la sustancia blanca del cerebelo, con algunos axones tumefactos (esferoides). En uno de los animales se encontraron dos focos de necrosis licuefactiva en el mesencéfalo, caracterizados por numerosas células de la microglía que reemplazaban al parénquima normal (Figura 4). Los vasos sanguíneos que rodeaban la zona mostraban células endoteliales hipertróficas. El diagnóstico morfológico fue meningitis fibrinosa multifocal, leve, crónica, con focos de necrosis licuefactiva en uno de los casos.

Hemograma y temperatura corporal

Al día 0 la T° corporal en los animales de ambos grupos tuvo valores levemente superiores

Tabla 1: Valores de temperatura corporal, porcentaje de neutrófilos y recuento de leucocitos en cada grupo.

		CS (n = 17)			SS (n = 10)		
		T° (°C)	Neutrófilos (%)	GB (cél/mm ³)	T° (°C)	Neutrófilos (%)	GB (cél/mm ³)
Día 0	Media y DE	39,9 (± 0,6) ^a	65,1 (± 13,4) ^a	12670 (± 5704)	39,4 (± 0,5) ^b	53,7 (± 11) ^b	10990 (± 2866)
	Rango	38,9 – 41,2	38 - 85	5800 - 24900	38,4 – 40,3	42 - 73	6300 – 15300
Día 14	Media y DE	38,6 (± 0,3) ^a	41,6 (± 14,3)	10162 (± 2675)	39,4 (± 0,4) ^b	52,5 (± 15,3)	11600 (± 2203)
	Rango	38 – 39,1	24 - 70	6100 - 15700	38,8 – 40,1	24 - 70	8800 – 15700

Letras distintas indican diferencias significativas entre grupos ($p < 0,05$).

a los normales (Tabla 1), hallándose valores ligeramente superiores para el grupo CS ($p = 0,04$). El día 14 de la prueba se observó una disminución del valor de temperatura para el grupo CS, mientras que los animales del grupo SS mantuvieron el valor de temperatura reportado en el primer muestreo. Los valores de T° del grupo SS fueron en promedio 0,86 °C más altos que los del grupo CS ($p < 0,0001$).

En cuanto a los resultados del hemograma, el día 0 de la prueba se pudo observar una marcada neutrofilia del grupo CS, significativamente superior a la encontrada en el grupo SS ($p = 0,03$), si bien ambos grupos presentaron valores por encima de los normales (15 a 45% superiores) (Tabla 1). Esta situación se normalizó en el segundo muestreo para el grupo CS, que presentó valores dentro de los parámetros normales, no hallándose diferencias entre ambos grupos ($p = 0,09$). El recuento total de leucocitos mostró un comporta-

miento similar entre grupos y fechas de muestreo (Tabla 1). El resto de los componentes celulares sanguíneos se encontraban dentro de los valores normales y no tuvieron variaciones entre los dos muestreos.

Serología de DVB e IBR

Para evaluar si hubo seroconversión para IBR y DVB, se realizó un muestreo de sangre pareado con intervalo de 14 días. No se observó seroconversión para ninguno de los dos agentes virales. Si bien una alta proporción de animales presentaron títulos a ambas enfermedades al comienzo de la prueba, la ausencia de seroconversión demuestra que no hubo actividad viral durante el brote descrito.

Tratamiento y recomendaciones

A todos aquellos animales que presentaron signos clínicos se les administraron un antiinfla-



Figura 5: Animal con síntomas previo al tratamiento



Figura. 6: Animal observado 15 días posteriores al mismo

matorio no esteroide (flunixin meglumina) para disminuir la inflamación en SNC a causa de la meningitis y un antibiótico de larga acción (oxitetraciclina). Catorce días posteriores a dicho tratamiento, al regresar al establecimiento para realizar el segundo muestreo, se observó una notable mejoría de los terneros tratados del grupo CS (Figura 5 y 6).

Considerando que el hacinamiento podría ser un factor predisponente, se recomendó evitar el encierre colocando los animales en una pastura, a fin de disminuir el estrés que este tipo de sistemas de engorde generan. Por otro lado, se indicó hacer vigilancia actuando en forma inmediata ante la presencia de algún animal con principio de síntomas, aplicando el tratamiento medicamentoso recomendado. También se sugirió evitar compras en campos sin calendario sanitario adecuado.

DISCUSIÓN

Las lesiones observadas son compatibles con un cuadro bacteriano crónico. Cuadros de serositis y meningitis fibrinosas en bovinos pueden ser causados por *Pasteurella multocida* o *Mycoplasma bovis*. Lesiones histopatológicas similares fueron descritas en terneros en casos de otitis media, con resultado positivo a *Mycoplasma bovis*. Dicha presentación también fue observada por otros autores, quienes describieron signos clínicos y lesiones similares. El estudio histopatológico del encéfalo ayudó a descartar otros agentes que pueden ocasionar signos clínicos semejantes, pero distintas lesiones histopatológicas, como por ejemplo *Listeria monocytogenes*, que produce microabscesos, o *Histophilus somnus*, que produce trombosis vascular.

La aplicación previa de un antibiótico a los animales enfermos por parte del profesional veterinario del establecimiento podría haber generado un resultado falso negativo de los cultivos bacteriológicos de las muestras remitidas durante las dos necropsias, incluyendo la búsqueda de *Mycoplasma bovis* en medios especiales. Sin embargo, la marcada neutrofilia, la meningitis exudativa descrita, el resultado del estudio histopatológico y la buena respuesta al tratamiento antibiótico concuerdan con la idea que el síndrome vestibular está asociado, entre otros factores, a agentes infecciosos bacterianos, que posiblemente

te sean comensales naturales de la orofaringe de los bovinos. En ciertas situaciones, los mismos aumentarían su población por encima de lo habitual, causando daño a través de sus desechos metabólicos y/o sus elementos de fijación, que serían de baja patogenicidad, lo cual podría provocar una respuesta inmunitaria débil o superficial, generando cuadros infecciosos con períodos de prepatencia prolongados. Desde la orofaringe los microorganismos alcanzarían el oído medio, produciendo otitis media y, desde allí, en cuadros graves (sin tratamiento), la infección podría seguir ascendiendo y desencadenar el cuadro de meningitis.

Otro factor influyente en esta enfermedad es el encierre para engorde a corral, que ocasiona un fuerte estrés y aumento del contacto entre animales, favoreciendo la difusión de la enfermedad a través del uso común de los comederos, donde caen restos de saliva y expectoraciones de animales enfermos. La hipertermia y la neutrofilia observadas en los animales de ambos grupos en el primer muestreo (día 0) permiten suponer que el proceso infeccioso afectó a la gran mayoría de los animales del lote, si bien sólo un grupo presentó signos clínicos.

No se descarta que virus como el de IBR pudieran actuar previamente, disminuyendo la inmunidad local al destruir el aparato mucociliar y facilitando, de esa manera, la colonización bacteriana secundaria. Cabe aclarar que la mayoría de los animales tenían títulos positivos a IBR y DVB al momento del brote, si bien no se observó seroconversión.

CONCLUSIÓN

Si bien en el presente caso no se pudo identificar el agente etiológico, los resultados histopatológicos reportados, el cuadro clínico observado, los resultados de los hemogramas, así como la respuesta al tratamiento con antibióticos de larga acción, permiten concluir que se trató de un caso de síndrome vestibular asociado a un proceso bacteriano de carácter crónico.

Agradecimientos: Los autores del presente trabajo quieren agradecer al Dr. Raúl Cerdá (Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires) por su colaboración en el cultivo de *Mycoplasma bovis*. Asimismo quieren agradecer al productor agrope-

cuario Sr. Jorge Garmendia y familia por la predisposición y colaboración en los trabajos de campo realizados.

BIBLIOGRAFIA

- Alonzo, P. 2005. IBR: Cuadros clínicos asociados a la enfermedad. Uruguay web page <http://www.produccion-animal.com.ar>. Acceso 4 de febrero de 2014.
 - Ayling, R.; Nicholas, R.; Hogg, R.; Wessel, J.; Scholes, S.; Byrne, W.; Hill, M.; Moriarty, J.; O'Brien, T. 2005. Mycoplasma bovis isolated from brain tissue of calves. *Veterinary Record* 156, 391-392.
 - Campero, C.M.; Odeón, A.C.; Cipolla, A. L.; Moore, D.P.; Poso, M.A.; 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* 49: 379-383.
 - Foster, A. ; Naylor, R ; Howie, N .; Nicholas, R .; Ayling, R. 2009. Mycoplasma bovis and otitis in dairy calves in the United Kingdom. *The Veterinary Journal* 179: 455-457.
 - Francoz, D; Fecteau, G; Desrochers, A; Fortin, M. 2004. Otitis media in dairy calves: A retrospective study of 15 cases (1987 to 2002). *Can. Vet. J.* 45: 661-666.
 - Lértora, W.J. 2003. Diarrea viral bovina: actualización. *Rev. Vet.* 14: 42-51.
 - Maunsell, F.P.; Donovan, G.A. 2009. Mycoplasma bovis infections in young calves. *Vet. Clin. Food. Anim.* 25: 139-177.
 - Maeda, T.; Shibahara, T.; Kimura, K.; Wada, Y.; Sato, K.; Imada, Y.; Ishikawa, Y.; and Kadota, K. 2003. Mycoplasma bovis-associated suppurative otitis media and pneumonia in bull calves. *J. Comp. Path.* 129: 100-110.
 - McEwen, S.A; Hulland, T. 1985. Haemophilus somnus-induced otitis and meningitis in a heifer. *Can. Vet. J.* 26: 7-8.
 - Morin, D.E. 2004. Brainstem and cranial nerve abnormalities: listeriosis, otitis media/interna, and pituitary abscess syndrome. *Vet. Clin. North. Am. Food. Anim. Pract.* 20: 243-73.
 - Odriozola, E.; Diab, S.; Khalloub P.; Bengolea, A.; Lázaro, L.; Caffarena, D.; Pérez, L.; Cantón, G.; Campero, C. 2009. Facial parálisis and vestibular syndrome in feedlot cattle in Argentina. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 29: 894-898.
 - Soehnlén, M.K.; Aydin, A.; Murthy, K.S.; Lengerich, E.J.; Hattel, A.L.; Houser, B.A.; Fenton, G.D.; Lyszczek, H.R.; Burns, C.M.; Townsend, A.M.; Brooks, J.W.; Wolfgang, D.R.; Jayarao, B. M. 2012. Epidemiology of Mycoplasma bovis in Pennsylvania veal calves. *J. Dairy Sci.* 95: 247-254.
 - Walz, P.; Mullaney, T.; Render, J.; Walker, R.; Mosser, T.; Baker, J. 1997. Otitis media in preweaned Holstein dairy calves in Michigan due to Mycoplasma bovis. *J. Vet. Diagn. Invest.* 9: 250-254.
-

Beneri, M.J.^{1,2}; Miranda, A .O.¹; Frances, O.³; Mastrantonio, G.^{2,4}

1. Área de Salud Pública Veterinaria. EEA INTA Anguil

2. Área de Toxicología, Departamento de Química, Fac. Cs. Exactas y Naturales UNLPam

3. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Pampa

4. Área de Toxicología, Departamento de Ciencias Biológicas, Fac. Cs. Exactas UNLP

Detección de monensina por espectrofotometría en piensos para la alimentación del ganado vacuno

RESUMEN

La incesante presión de la agricultura, así como la búsqueda de una mayor eficiencia en los sistemas ganaderos, ha conducido a un mayor uso de herramientas farmacológicas como estrategia para mejorar la rentabilidad de la ganadería.

La Monensina (MN) es un antibiótico poliéter (PEs) del grupo de los ionóforos elaborado por un hongo, el *Streptomyces cinnamonensi*. El objetivo de este trabajo es contar con un método de cuantificación de MN en pienso utilizando equipamiento de baja complejidad, disponibles en laboratorios veterinarios de análisis rutinarios, y que además permita realizar un mayor seguimiento en cuanto a la formulación de las dietas y sus componentes, evitando pérdidas tanto clínicas como subclínicas que afecten la rentabilidad del sistema ganadero.

Se obtuvo un límite de detección (LOD) de 3 mg MN/Kg de alimento y un límite de cuantificación (LOQ) de 8 mg MN/Kg de alimento. La técnica es apropiada para medir MN en piensos en dosis normales de trabajo y en sobredosificaciones con un bajo costo de insumos y equipamiento.

Palabras clave: monensina, piensos, toxicología veterinaria, análisis de alimentos.

SUMMARY

The incessant pressure of agriculture and the search for greater efficiency in livestock systems, has led to increased use of pharmacological tools as a strategy to improve the profitability of livestock. The monensin (MN) is a polyether antibiotic (PEs) from the group of ionophores compounds produced by a fungus, *Streptomyces cinnamonensi*. This work is a communication of a simple and reliable method of quantifying MN in animal feed, using low complexity equipment available in routine veterinary laboratories. Thus, a better monitoring of the formulation of diets and their components will be possible, avoiding both clinical and subclinical losses which in the end affect the profitability of the farming. The technique resulted suitable for measuring MN in feed in normal doses and overdoses working with low cost supplies and equipment.

Keywords: monensin, animal feed, veterinary toxicology, food analysis

INTRODUCCIÓN

La creciente presión de la agricultura, así como la búsqueda de una mayor eficiencia en los sistemas ganaderos, ha conducido a un mayor uso de herramientas farmacológicas como estrategia para incrementar la rentabilidad en la ganadería.

En ese contexto, el uso de antibióticos ha generado una mejora sustancial de la eficiencia en los sistemas de engorde hasta alcanzar un uso casi masivo a lo largo de estos últimos años (Bretschneider, G. 2009).

La monensina (MN) es un antibiótico poliéter (PEs) del grupo de los ionóforos elaborado por un hongo, el *Streptomyces cinnamonensi*, y es de uso cada vez más intensivo en la cría de ganado vacuno. Desafortunadamente, no es infrecuente la presentación de casos de intoxicación, debidos al consumo de altas cantidades en el alimento como consecuencia de una inadecuada formulación, de una incorrecta preparación de la premezcla y/o mal mezclado en el mixer o a una deficiente distribución en el comedero (Odriozola, 2004). La dosis terapéutica estándar establecida para la MN es de 1 a 3 mg MN/Kg de peso vivo (PV). En la práctica veterinaria, que incluye consideraciones del manejo de la hacienda, estas dosis se traducen en el uso de 5 a 40 mg MN/Kg de alimento.

Si bien MN presenta un amplio margen de seguridad, en los últimos años se ha detectado un número importante de casos de intoxicación. Esto se debe a que ha aumentado el uso del producto, en la medida que se han verificado en terreno los efectos benéficos sobre la cría vacuna, por un lado, por otro lado en la optimización de la conversión de alimento, y por otro, por la prevención de ciertas patologías como el meteorismo, la acidosis y la coccidiosis bovina.

La MN presenta gran afinidad por los cationes como el sodio, alterando la permeabilidad de la membrana celular. Esta acción afecta las células musculares del corazón y musculo esquelético, generando una miopatía cardíaca con éxtasis sanguíneo y edema intersticial pulmonar consecuente (Pascuet et al, 2005). La Toxicidad puede presentarse tanto en forma aguda como crónica dependiendo de la dosis ingerida. La DL_{50} se ha establecido entre 50 y 80 mg MN/Kg PV en tanto que las primeras manifestaciones clínicas de intoxicación aparecen frecuentemente con dosis de 10 mg MN/Kg PV (Radosititis et al, 2002). Esto significa un estrecho margen entre una sobredosis y una dosis mortal, lo que implicaría un riesgo alto de muerte para un animal intoxicado. Sin embargo, las tasas de mortalidad reportadas han sido muy variables con valores que oscilan entre el 1 % y 20% (Odriozola, 2004; Rodríguez Armesto et al,

2004; Suárez, V. H. y Miranda, O. A. 2008; Burla, 2007).

Desde comienzo de la década de los 70', varios métodos de detección y análisis de confirmación se han reportado para la determinación de uno o más PEs en alimentos. La mayoría de estos métodos utilizan cromatografía líquida (HPLC) como método de elección, lo que requiere de equipamiento de laboratorio de alta complejidad y en consecuencia de alto costo. Por otro lado y dado que varios de estos PEs no poseen respuesta al ultravioleta (UV) y a la fluorescencia, en general los procedimientos analíticos implican pasos previos de derivatización, con variaciones según método (pre y post columna) (Dusi, G. y Gamba, V. 1999; FAMIC, 2013) lo que complejiza aún más las mediciones. Por estas razones, la búsqueda de un método de cuantificación de MN en piensos, utilizando equipamiento de baja complejidad, constituye un objetivo fundamental de aplicación en medicina veterinaria. Contar con una metodología al alcance de laboratorios de pequeña escala, permitiría realizar un mejor seguimiento de la formulación de las dietas y sus componentes, evitando pérdidas tanto clínicas como subclínicas que afecten la rentabilidad del sistema ganadero. En este trabajo se reporta un método sencillo, rápido y confiable que permite el dosaje de MN en muestras de alimentos destinadas al consumo del ganado.

MATERIALES Y MÉTODOS

El método consiste en dos etapas, una pre-analítica y otra analítica. La etapa pre-analítica incluye la preparación de la muestra, la obtención de un extracto y la derivatización por copulación con el cromóforo p-dimetilaminobenzaldehído (PDB). La fase analítica del método incluye la determinación espectrofotométrica del compuesto de color azul producto de la copulación, que presenta máxima absorbancia a 578 nm.

Material de vidrio requerido: tubos de ensayo de 10 ml (con tapa o tapón), matraces de 10 y 100 ml, pipetas de 5 y 10 ml.

Equipamiento requerido: molinillo de cuchillas de acero, baño termostático y espectrofotómetro.

Reactivos requeridos (calidad pro analisis): Etanol anhidro, H_2SO_4 , PDB y MN.

Muestreo

Para la evaluación de un pienso a granel, se obtiene una muestra primaria a partir de la combinación de al menos cinco alícuotas obtenidas desde distintas porciones del contenedor del material, procurando un total de, al menos, 500 gr finales.

Preparación y extracción

Desde la muestra primaria se obtiene, por cuarteo, una alícuota de 100 gr de la muestra. Mediante molinillo, se realiza la molienda de dicha alícuota procurando la obtención de un polvo fino.

Se toman 10 gr del material triturado y se le agregan 100 ml de etanol anhidro.

Se agita durante 10 minutos para favorecer la mezcla completa y se filtra para obtener un extracto etanólico.

Para establecer la curva de calibración, se dispone de un pienso preparado con 84 % de grano de maíz entero, 1 % de grano de avena, 4.2 % de pellet de soja, 1% de carbonato de calcio, 1,1% de urea y un 8.7% de fibra efectiva en forma de rollo, que se utiliza como matriz de referencia. A partir de ella se prepara una muestra de referencia de concentración 120 mg MN/Kg, por incorporación de cantidades apropiadas de MN calidad analítica. Se preparan entonces dos extractos etanólicos, uno desde la matriz de referencia (extracto A) y otro desde la muestra de referencia (extracto B). A partir de estos dos extractos se prepara una serie de diluciones en el rango de 0 a 120 mg MN/Kg de alimento, con cinco niveles, por duplicado.

Reacción de copulación

Dado que el agua interfiere en la reacción, todo el proceso previo debe llevarse a cabo utilizando etanol anhidro y evitando la contaminación con agua (material de vidrio, operaciones de trasvase, etc.). La reacción de derivatización se da en

medio ácido garantizado por la adición de H_2SO_4 . El PDB es el reactivo derivatizante de la MN, generando un producto azul, con un máximo de absorción a 578 nm.

Se prepara PDB en etanol anhidro, (2,5 g/L), con un contenido final H_2SO_4 98% (1/100). Esta solución debe prepararse el mismo día de trabajo. No puede almacenarse.

Se prepara una batería de tubos de ensayos por duplicado, en donde se adiciona 3 ml de cada punto de la curva, mas 3 ml de la solución de PDB.

Todos los tubos se tapan e incuban a 70°C en baño termostático durante 20 minutos para que se lleve a cabo la reacción.

Espectrofotometría

Una vez frías, las soluciones obtenidas se leen en el espectrofotómetro a 578 nm. Se prepara un blanco de reactivo utilizado para establecer el 0,0 del equipo, con una solución de etanol / H_2SO_4 98% (99/1). Las muestras que arrojen concentraciones por encima del rango establecido por la curva de calibración, deben diluirse 1/5 con el extracto A y luego repetir la medida.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los datos correspondientes a la curva de calibración de MN ajustada por regresión lineal se presentan en la tabla 1.

Es necesario tomar en cuenta, como ya fue mencionado, que es frecuente encontrarnos con piensos deficientemente mezclados, de manera que el muestreo se constituye en una etapa crítica y debe tomarse especial cuidado en su desarrollo. El tiempo total de análisis, desde el procesamiento de la muestra, hasta la obtención del resultado por espectrofotometría es de aproximadamente 4 hs. El método propuesto aplicado a la rutina, permite valorar el dosaje de MN en piensos, hasta dos veces el valor superior de riesgo veterinario (600 mg/Kg).

Límite de detección (LOD)	3 mg MN/Kg
Límite de cuantificación (LOQ)	8 mg MN/Kg
Rango lineal	8 a 120 mg MN/Kg de alimento
Rango normal	5 – 40 mg MN/Kg de alimento
Valor de riesgo veterinario	200 – 300 mg MN/Kg

Tabla 1.

CONCLUSIONES

La técnica es apropiada para medir MN en piensos en dosis normales de trabajo y en sobredosificaciones. Es un método con un bajo costo de insumos y equipamiento comparado con otros métodos descriptos en la literatura.

De los insumos requeridos por la técnica propuesta, el que tiene mayores restricciones para su adquisición, corresponde a la MN como droga de calidad analítica. Nuestro laboratorio dispone de material de referencia analítica, el que puede ser solicitado haciendo referencia a la temática de este artículo.

En la medida que un mayor número de productores accedan a la capacidad de evaluar las dosis efectivas que se administran a los animales a través de los piensos, se podrá acumular una mayor casuística, tanto respecto de la eficacia del producto como de las situaciones de riesgo de intoxicación, aportando en la mejora de los protocolos de aplicación de MN en la producción pecuaria.

BIBLIOGRAFÍA

- Bretschneider, G. 2009. Beneficios del uso de monensina en la alimentación del ganado para carne, leche y cría. Revista electrónica de Veterinaria. ISSN: 1695-7504, Vol. 10, N° 10.
- Burla, E. R. 2004. Descripción de un caso de intoxicación crónica con monensina en bovinos. Monografía

Facultad de Cs. Veterinarias UNCPBA. Tandil, Bs. As. 45p.

- Dusi, G., Gamba, V. 1999. Liquid chromatography with ultraviolet detection of lasalocid, monensin, salinomycin and narasin in poultry feeds using pre-column derivatization. *Journal of Chromatography A*, 1999, 835 243–246
- Odriozola, N. 2004. Intoxicación por monensina. E.E.A INTA Balcarce.
- Pascuet, M. L.; Moore D. P.; Iraguen Pagate, I.; Cosentino I. A.; Odriozola, E. 2005. Cambios enzimáticos, lesiones macroscópicas y microscópicas producidas por la intoxicación con monensina en bovinos. *Rev. de Med. Vet.* Vol. 86, 2, Pág. 47-51.
- FAMIC. 2013. Manual sobre métodos de determinación de monensina sódica del FAMIC (Food and Agricultural Materials Inspection center). [www.famic.go.jp/ffis/oie/obj/a27_mn.pdf] consulta 20-04-2013.
- Redostitis, O. M.; Gay, C. C.; Blood, D. C.; Hinchcliff, K. W. 2002. Intoxicación por ionóforos. *Medicina Veterinaria*. Ed. Mc Graw-Hill. Novena Edición Español. Pág. 1931.
- Rodríguez Armesto, R.; Peralta, C.; Ochoteco, M.; Picco, E.; Litterio, N.; Boggio, J. C. 2004. Posible intoxicación accidental con monensina en terneros destetados. *Vet. Arg.* Vol. XXI. N°201. Pág. 13-20.
- Suárez, V. H.; Miranda, O. A. 2008. Intoxicación por monensina, caso de diagnóstico de la Unidad Regional de Sanidad Animal. Encuesta a productores y Registro de Enfermedades. *Boletín N° 3*. Proyecto Federal de Innovación Productiva, Pág. 12,13.

Miranda, A.¹; Romero Harry, H.¹; Montero, S.²; Minatel, L.³; Bratanich, A.³

1. INTA EEA Anguil

2. Veterinario actividad privada

3. Facultad de Cs Veterinarias, UBA

Caso presuntivo de Fiebre Catarral Maligna en la provincia de La Pampa, Argentina

INTRODUCCIÓN

La fiebre catarral maligna (FCM) es una enfermedad infecciosa viral aguda, esporádica y generalmente fatal que afecta a muchos animales domésticos y salvajes, entre ellos a los bovinos. La FCM puede ser causada por dos tipos de Herpesvirus de la subfamilia gamma-herpesviridae. El herpesvirus-1 alcelafino (AIHV-1) presenta como hospedador natural al ñu, causando la enfermedad fundamentalmente en bóvidos en regiones de África y el herpesvirus-2 ovino (OvHV-2), que prevalece en todas las variedades de ovejas domésticas como una infección subclínica y es causa de la FCM en la mayor parte del mundo. Esta última presentación fue calificada primeramente como FCM asociada a la oveja. En ambas formas los animales que tienen la enfermedad clínica no son fuente de infección, ya que el virus sólo lo excretan los hospedadores naturales, ñues y ovejas, respectivamente (OIE, 2014; O'Toole, 2014). La FCM se caracteriza por acumulaciones celulares linfoides características en órganos no linfoides, vasculitis e hiperplasia de linfocitos T en órganos linfoides. Considerando que la FCM es de presentación esporádica, los reportes en Argentina son relativamente escasos (Lomónaco, 2003; Venzano, 2008 y Zenobi, 2007). Por tal motivo el presente trabajo reporta el primer caso presuntivo de dicha enfermedad en rodeos bovinos de la provincia de La Pampa, Argentina.

CASO REPORTADO

El presente caso se reporta en un lote de 550 vacas en un establecimiento de ciclo completo ubicado en cercanías de la ciudad de General Pico, Las Pampa. El lote de animales se encontraba en un potrero de agropiro y pasto natural, registrando al momento de la consulta una morbilidad del 0.9% (5 animales) con una mortalidad del 100%. Los animales comenzaron con temperatura elevada (41°C), pérdida de la visión ocasionada por la opacidad corneal, erosiones en morro, babeo, secreciones mucopurulentas en ollares, decaimiento general (Foto 1), dificultad respiratoria muy marcada y finalmente muerte a pesar del tratamiento instaurado (Antiinflamatorios y antibióticos de amplio espectro). Al momento de la consulta el establecimiento contaba con una majada pequeña de ovinos para consumo.

Hallazgo de necropsia

Se realizó la necropsia de dos vacas de raza Aberdeen Angus de segunda parición con un peso estimado de 380kg. Se observó una gran congestión de todo el tracto respiratorio con especial énfasis en paladar duro, faringe, amígdalas, tráquea, ganglios retrofaringeos y pulmón a lo largo de todo el parénquima pulmonar. En paladar duro y faringe se observó la presencia de una colecta catarral de tipo diftérica (Foto 2). En esófago se observaron erosiones y desprendimiento de mucosa; los demás órganos del aparato digestivo



Foto 1: Bovino afectado por Fiebre catarral maligna (gentiliza Dr. Perusia).



Foto 2: Gran congestión y colecta de membrana diftérica en paladar duro y lengua.

no presentaron lesiones aparentes. El hígado se presentó de color marrón claro con apariencia de nuez moscada. En sistema nervioso central (SNC), se pudo observar congestión de vasos sanguíneos. Todos los demás órganos no presentaban lesiones macroscópicas aparentes.

Análisis y estudio complementario

De acuerdo a los hallazgos de necropsia y considerando las lesiones reportadas en pulmón se tomaron muestras para realizar cultivo en agar sangre. Así mismo se realizaron improntas de pulmón, riñón y tiroides para detectar, por medio de Inmunofluorescencia Directa (IFD), y dependiendo el tipo de órgano a analizar, la presencia de virus de IBR, DVB, Virus Sincitial Respiratorio Bovino (VSRB) y Parainfluenza 3 (Pi 3), respectivamente. Así mismo, se tomaron muestras de órganos para análisis histopatológico las cuales fueron procesadas mediante técnicas histológi-

cas rutinarias utilizando para ello la coloración de hematoxilina/eosina.

Reacción en cadena de polimerasa (PCR)

Para realizar la extracción de ADN de las muestras incluidas en tacos histológicos se utilizaron dos métodos disponibles (kit comercial - DNAzol, invitrogen y digestión con proteinasa K y extracción fenólica de acuerdo a Dietrich et al. (2013). Las muestras fueron procesadas pre-analíticamente de acuerdo a las recomendaciones de cada método. Posteriormente se realizó la cuantificación de ADN por espectrofotometría de acuerdo a las recomendaciones de Hong et al (1995).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En cuanto al análisis microscópico, se describen las siguientes lesiones. El pulmón presentó una leve a moderada congestión, con edema alveolar en aproximadamente 40-50% del corte. Se observó hemorragia en la luz alveolar así como en algunos vasos sanguíneos de mediano calibre, necrosis de la túnica media e infiltrados inflamatorios en la pared compuestos por linfocitos y macrófagos. En la pleura se observó leve enfisema intersticial. En tanto que en hígado, los espacios porta presentaron infiltrados inflamatorios moderados compuestos por células mononucleares y ocasionales polimorfonucleares, en la mayor parte de los espacios porta se observó vasculitis caracterizadas por destrucción de las paredes vasculares con infiltrados inflamatorios. En dichos infiltrados se identificaron células linfoides con menor cantidad de neutrófilos. Las células linfoides se presentaron de distinto tamaño, aunque no fue posible evaluar los detalles de la morfología nuclear. Se observó presencia de fibrina en las paredes de dichos vasos sanguíneos. En riñón no se observaron alteraciones relevantes, aunque no fue posible obtener un buen corte del órgano. El análisis microscópico morfológico permitió diagnosticar la presencia de una vasculitis linfocitaria multifocal, con necrosis de la túnica media, subaguda y moderada/severa en pulmón e hígado, respectivamente.

La presentación epidemiológica y patológica del presente caso es similar a la reportada por O'Toole (2014) quien realizó una descripción de la FCM con especial énfasis en el herpesvirus ovino-

2 (OvHV-2). Por otro lado los resultados son concordantes con los reportados por otros autores en Argentina (Zenobi, 2007; Venzano, 2008). Si bien la técnica de PCR arrojó un resultado negativo, debemos considerar que las muestras utilizadas en dicha técnica estaban conservadas en formol situación que, pudo condicionar a un resultado falso negativo (Dietrich et al, 2013).

CONCLUSIÓN

Si bien la prueba de PCR resultó negativa, de acuerdo a los signos clínicos, los hallazgos de necropsia, la presencia de ovinos como posibles portadores del virus, así como las lesiones microscópicas y patognomónicas halladas en el presente caso se concluye que pudo haberse tratado de un caso de Fiebre Catarral Maligna. Ante esta presunción y considerando el rol epidemiológico del ovino en la transmisión de la enfermedad, se recomendó como práctica de manejo evitar el mayor contacto posible con los bovinos del establecimiento.

BIBLIOGRAFIA

- Dietrich, D.; Uhl, B.; Sailer, V.; Holmes, E.E.; Jung, M.; Meller, S.; Kristiansen, G. 2013. Improved PCR Performance Using Template DNA from Formalin-Fixed and paraffin-Embedded Tissues by Overcoming PCR Inhibition. *PLoS ONE* 8 (10): e77771. Doi:10.1371/journal.pone.0077771
- Hong, L.I.; David, T.S.; Donal O'Toole; Donald, P.; Knowles, J.R.; Gorham, T.B. 1995. Investigation of Sheep-Associated Malignant Catarrhal Fever Virus Infection in Ruminants by PCR and Competitive Inhibition Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *Journal of Clinical Microbiology*, Vol 33, 8, p. 2048–2053.
- Lomónaco, M.; Compaired, D.; Fondevila, N.; Lager, I.; Odeón, A.; Venzano, A.; Ruiz, M.; Funes, D.; Zacañas, S.; Bratanich, A. 2003. Detección del virus de Fiebre Catarral Maligna en un caso sospechoso de la provincia de Buenos Aires. Reunión Anual de la Sociedad Argentina de Virología. Tandil, Argentina.
- OIE. 2014. Fiebre Catarral Maligna. Web page: <http://www.oie.int/es/>. Acceso online, 10 de Marzo de 2014. Capítulo 2.3.14.
- O'Toole, D.; Li, H. 2014. The Pathology of Malignant Catarrhal Fever, with an emphasis on ovine herpesvirus 2. *Veterinary Pathology Online*. Published 5 February 2014. 1 -16 p.
- Venzano, AJ , Gándara G , Delgado F , Capellino F , Dus Santos MJ , Morris WE , Diodati J , Funes DV , García B, Zacañas S, Bratanich A , Blanco Viera F, Bolondi J , Mercado, E, Elisondo, A. 2008. Fiebre Catarral Maligna por Herpesvirus Ovino-2 Asociada a Diarrea Viral Bovina en Bovinos de Buenos Aires, Argentina. VI Reunión Argentina de Patología Veterinaria, Corrientes, Argentina.
- Zenobi, C. 2007. Fiebre Catarral Maligna. Una enfermedad poco tenida en cuenta en nuestro medio – Mención al primer diagnóstico confirmado en bisontes del zoológico de Buenos Aires, Argentina. Web page. www.icaarg.com.ar . Acceso 1 de marzo de 2014

Epidemiology of cattle diseases in the north east of La Pampa province, Argentina

ABSTRACT

A cross-sectional survey was carried out on 350 farms in the north east of la Pampa province. The goal was recorded the prevalent pathologies in the bovine herd and describe those of major prevalence. Farms were stratified into three categories on the basis of adult herd size (300 to 500 cattle, 500 to 900 cattle, and greater than 900 cattle) and a random sample selected from each strata. According to the productive system were classified into Fattening (F), cow-calf (C) and cow-calf-fattening (CF). The presented data area part of a comprehensive survey on farms cattle that it was taken by INTA and Ministry of Production staff throughout 2007. The information detailed on this paper corresponding to main clinic sign and health problems recorded by farmers. Farms with Actinosis (n=115), Bovine respiratory diseases (BRD) (n=77), Neonatal calf diarrhea (NCD) (n= 60), Copper deficiency (n=54), and Blackleg, Gas gangrene and Enterotoxaemia (BGE) (n=39) were described as main disease. NCD and BGE were geographically distributed on the southern half surveyed, while actinosis, copper deficiency and pneumonia were distributed on the centre-west area. BRD also showed a second risk area on the northwest. According to production system, was found that BRD were associated to F, while NCD, copper deficiency and BGE were associated to CF. Actinosis was not associated with any production system. According to strata level, no differences were found for any diseases analysed in the present essay.

Keywords: disease mapping; risk mapping; spatial epidemiology

INTRODUCTION

The animal health is one the factors that attempts against productivity of cattle system. The development of a health information system as other aspects in animal production, aid the use and interpretation of data for efficient planning and livestock policy management. There are many examples in countries of the world about geographic information system (GIS) (Bosque Sendra J. 2000) designed to detect diseases, trends or productive problems, new diseases and pathology prevalence in order to take rational decisions. In some states from the United States of North America, (Curtis and Farrar, 1990), have developed a system (National Animal health Monitoring system, NAHMS), which use, both productive, economics and sanitary data from cattle. Several European countries (Frankena et al., 1990; Morris et al., 1993) are pioneers in this sort of information system and software, which allow to do risk analysis, cost-benefit, policy address, etc. The exploratory maps help researchers to have a better impression about distribution of geographic spatial risk (Berke, 2005).

In Argentina, as in other countries of South America, database and a sanitary information system are starting. These systems will help to know cattle diseases prevalence and identify possible risks factors to better control strategies.

The aim of the paper was to describe, characterize and analyze the principal cattle diseases affecting herds in the northeast of La Pampa, using data collecting from a field survey.

El presente trabajo fue aprobado para su publicación en la Revista de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad del Nordeste, número 25:2, 2014.

MATERIALS AND METHODS

Study area and population sampling

This was a cross sectional survey of health management practices and prevalence diseases. The sampling frame was comprised of farms in the departments of Chapaleufú, Realicó, Rancul, Trenel, Maracó, Conhelo, Capital, Quemú Quemú, Catriló and Atrucó in the north east of La Pampa province, Argentina (figure1). Farmers that had more than 300 bovines was only included in the survey. A total of 350 farmers were surveyed and stratified into three strata on the basis of herd size: small (S) (300 to 500 cattle), medium (M), (500 to 900 cattle), and large (L), (more than 900 cattle). The method of finite population sampling provided by Cochran (1997) was used to determine the number of farms by strata and district. A confidence level of 5% was established. After defining the number of farms, random sampling from the list of farmers was used to pick the farms to survey within each stratum. Selected farms were visited by INTA and Ministry of Production staff throughout 2007.

Survey design

A cross-sectional survey of health management practice with reference to spatial location, productive information (stock farmer, livestock hectare, principal activity, etc.) and sanitary information as vaccinations, disease frequency (venereal disease, endoparasite, ectoparasite, horn fly, myiasis, bloat, tetany down cows, and keratoconjunctivitis) was conducted. Furthermore, the survey included questions about clinic signs and diseases found or not in their farms, for this, not

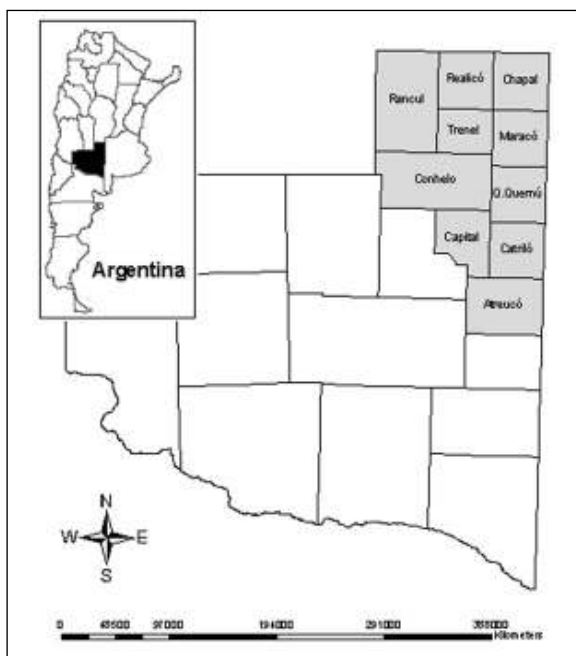
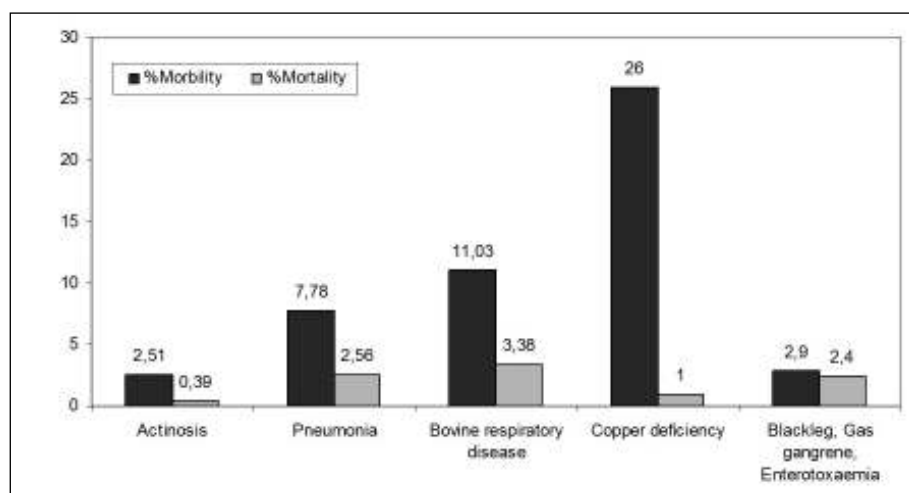


Fig. 1. Map of La Pampa province displaying study area location.

only a list of signs and symptoms but a disease list as well, was provided. Morbidity and mortality, category affected and the season years when this happened were recorded. Moreover, if it had or had not diagnostic either clinic or laboratory was asked.

Mapping and statistics analysis

Farm identifiers were matched with a digital map of farm boundaries and the point location of each farm defined as the centroid, throughout method feature to point by Arcgis 9. The outcome geographic representation showed the risk of the area under study, however, the spatial point data



Graf 1: Percentage of morbidity and mortality of the main diseases.

generally irregularly and discretely georeferenced in space and therefore requires spatial interpolation for mapping isopleths. Geostatistical kriging method was chosen and provided by ArcGis 9 (ESRI). On the other hand, to detect “cluster”, statistical spatial software, SaTScan (v. 7.0.3) was used, taken as qualitative and quantitative variable of analysis, presence (1) or absence (0) of disease.

Analysed risk factors inside and outside the cluster

Each disease was subjected to spatial statistical analysis, determining high prevalence areas. It was defined as “cluster”. Thus, it is induced that, the spatial location of farms, would condition the presence or absence of diseases, based on productive and agro-ecological features of the region such as: productive activity (livestock, agricultural and agricultural livestock), productive system (CF, F and C) and stocking rate. For the statistical analysis, both descriptive techniques and association measures provided by Infostat statistical software (Di Rienzo, 2010) were used.

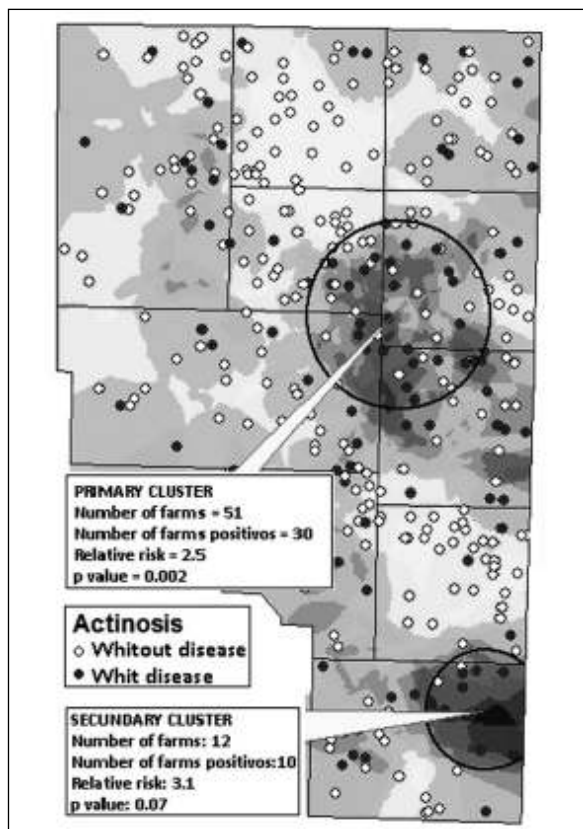


Fig 2: Isopleth risk map of Actinosis. Primary and secondary cluster with detail of farmer number, relative risk, and statistic likelihood.

RESULTS

350 cattle farms totalled 378.748 hectare (mean: 1091 ± 1930 ha), and livestock of 327.993 bovines (mean: 937 ± 1001). Sixty seven, one hundred twelve and one hundred forty seven S, M and L farms were surveyed. The majority of surveyed farms were mixed cow-calf-fattening ($n=226$, 63%). The remainder of farms were either fattening ($n=106$, 33%) or cow-calf ($n=14$, 4%) only. Median stocking density was 1.12 head per hectare (range ± 0.54).

As a result of herd signs and health problems seen during the survey, five main pathologies were described: actinosis (Actinomycosis / actinobacillosis), bovine respiratory diseases (BRD), neonatal calf diarrhea (NCD), copper deficiency and black leg, gas gangrene and enterotoxaemia (BGE). The graph 1 show the morbidity and mortality percentage of each disease described. Parasitic diseases were treated in another publication.

Actinosis: A main number of farms ($n=115$) with Actinosis were recorded with low morbidity and mortality (graph 1). Jaw abscess (21.7%), swollen throat, wooden tongue (28.0%). This kind of presentation is easy way to identify by farmers, for this reason, only 52% requested veterinary service diagnostic. 11% of farmers reported both pathologies at once. A major prevalence on departments at center of the study area on isopleths risk mapping are shown (figure 2). The mapping show two clusters, the primary cluster had a relative risk (RR) of 2.5 (0.95; $p=0.002$), and the secondary cluster had a RR of 3.1 (0.90; $p=0.07$). As regards to risk factor analysis, not statistical differences were founded.

Bovine respiratory diseases: Cases with symptomatology respiratory as colds (7.4%) cough (16.9%), bronchopneumonia (20.7%), fever and weakness (5.7%) in 77 herds were recorded. Calves (72%) and steers (17%) were affected during weaning on autumn (44%) and winter (45%). Furthermore, the 3.4% (F 3.6%; CF 3.3%) of farmers reported fever cough and stress after transport. The mapping risk show two clusters (figure 3), the primary cluster have a RR of 4.8 (0.95; $p=0.01$), while secondary cluster show a RR of 3.18 (0.95; $p=0.008$). As regard cluster factor risk, BRD was associated statistically with Fattening systems (OR=1.76; $p=0.051$).

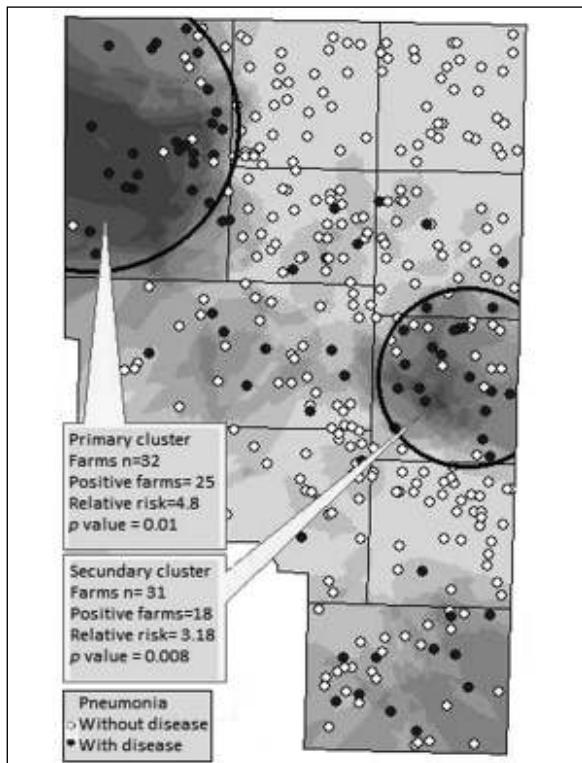


Fig 3: Isopleth risk map of BRD. Primary and secondary cluster with details of farms numbers, relative risk, and statistic likelihood.

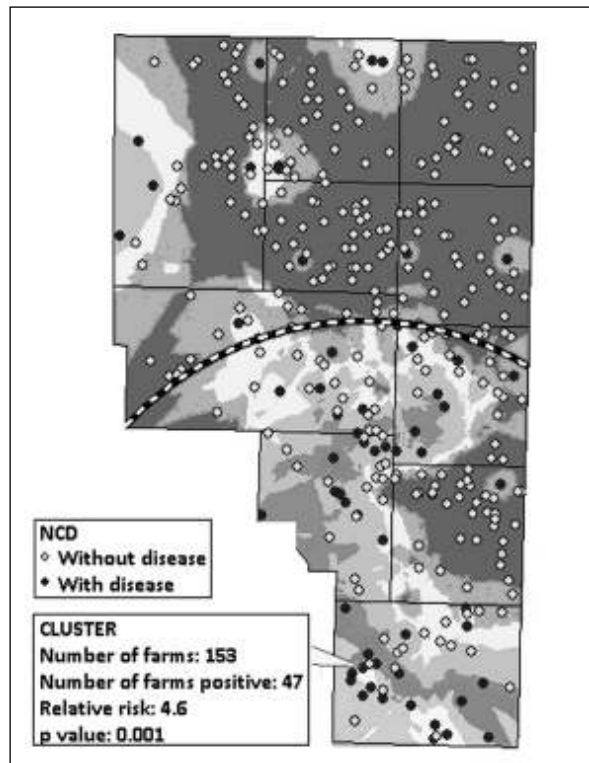


Fig 4: Isopleth risk map of NCD. Cluster with detail of farms numbers, relative risk, and statistic likelihood.

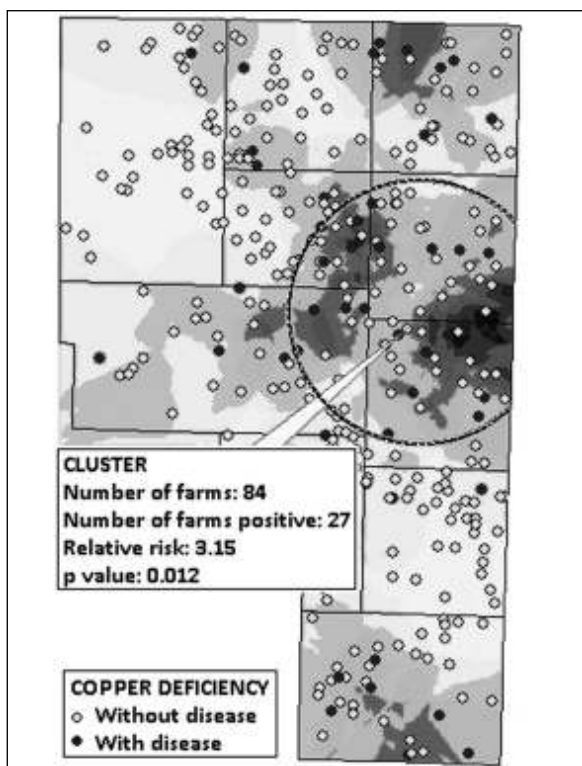


Fig 5: Isopleth risk map of Copper deficiency. Cluster with detail of farms numbers, relative risk, and statistic likelihood.

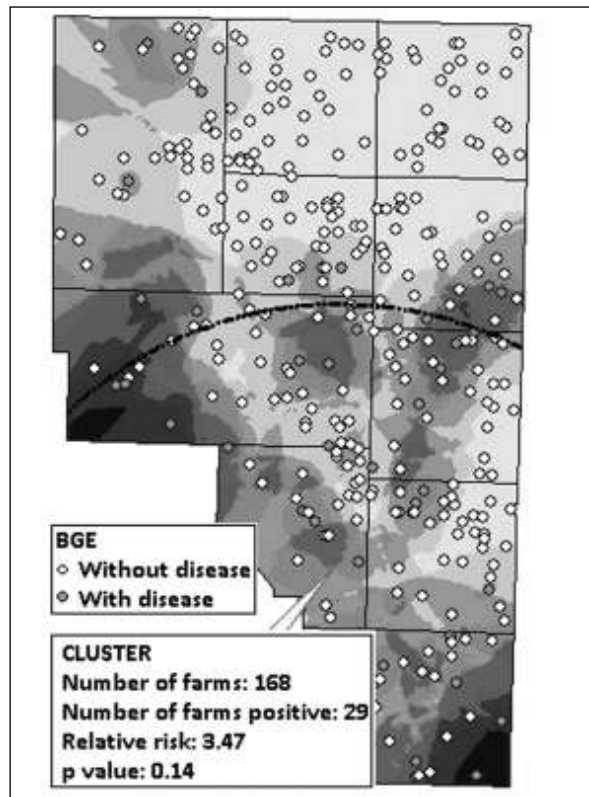


Fig 6: Isopleth risk map of BGE. Cluster with details of farms number, relative risk, and statistic likelihood.

Neonatal calf diarrhea (NCD): 25% (n=60) of all owners (239) that have cows and bulls, reported not only problems of water feces and colitis in one to two week old calves, as well as pneumoenteritis (21.8%, n=52). Figure number 4 shows the RR of NCD. We can see two areas with dissimilar epidemiological features. The north area does not have risk, while the south area shows a RR of 4.6 (0.95; p=0.001). Production system features of the southern area show majority CF and C productive systems agreeing with the outcome on the study risk factors (p=0.022; OR=1.74). No statistic differences were founded between strata.

Copper deficiency: farmers alleged (n=54, 15%) copper deficiency herd problems. Figure 5 shows a cluster on center-east area with a RR of 3.15 (0.95; p=0.012). On the other hand, major presence of cases (X^2 4.48; p=0.04) in CF farms were determined. Livestock systems showed more risk of copper deficiency presence (p=0.065; OR=1.74) than agriculture-livestock systems. Veterinary diagnostics shows that copper deficiency affected all categories as calves (34%), cows (18%) and heifers, steers and bulls (10%).

Black leg, gas gangrene and enterotoxaemia (BGE): Owners stated (n=39, 11%) to have sudden dead, maimed animals or feeding abrupt changes, respectively for diagnostics of black leg, gas gangrene (16.3% CF; 4.5% F) and enterotoxaemia (3.3% CF; 2.7% F). More number of cases of black leg or gas gangrene in CF farms (X^2 9.7; p=<0.002) were observed, affecting mainly calf (87%) and baby beef (11%). The morbidity and mortality was respectively 2.9% and 2.5%. In general owners reported veterinary diagnostics (77%). Almost the totality of farms surveyed (n=338, 98%) vaccinated against BGE. The mean number of annual doses was 1.47 ± 0.59 , with 58%, 37% and 4.8% of farmers that apply respectively one, two and tree times per year. Figure 6 shows the risk of distribution of BGE, finding a major presence of cases on the south middle with a RR of 3.47 (0.95; p=<0.001).

DISCUSSION

From the epidemiological-productive point of view, notice diseases that show different behaviour; hence we found diseases with high morbidity as copper deficiency (26%), and low mortality

(1%), and pathologies with lower morbidity as ND (11.03%) but higher mortality (3.38). This feature often confuses to farmer, underestimates subclinical losses in those diseases which mortality is low. The results found in this study on morbidity and mortality of diseases appearing consistent records in the Regional Unit of Diagnostic Casuistic of INTA (National Institute of Agricultural Technology) (unpublished observations).

Actinosis: We include two diseases under this nomenclature, Actinomyces (*Actinomyces bovis*) y Actinobacillosis (*Actinobacillus lignieresii*). Both are associated by presenting clinic characteristic and similar treatment. To practical purpose, an exact clinic appreciation of the location injury will help to guide to definitive diagnostic, but this only will be achieved by identifying the agent etiologic throughout bacteriological culture. Steers of 1,5 to 2 years old who have change your teeth is a factor risk condition, this characteristic agrees with the results obtained in our study where steers (50%) and yearlings (22%) are the main categories affected, but we don't found differences as regards to productive system, indicative of a clear presence in both systems. Both etiological agents are commensals in the oral cavity, gaining entry into tissues (jaw, tongue, lymph nodes of the head, neck and thorax) after a traumatic injury (abrasive grasses) or unknown mechanism (Jones, 1997). The occurrence of diseases depend of individuals conditions, this would explain no association with stocking rate and productive strata.

Bovine respiratory diseases: Under this name, a set of common diseases, signs and symptoms that affecting mainly young categories are described commonly as pneumonia. The economics losses caused by this disease (reduced growth, increased mortality, reduced fertility and increased treatment expenditures), have been studied with more details on intensive productive system (dairy farms and feedlots), (Van der Fels-Klerx, 2001; Snowden, 2006), than grazing or semi-intensive systems prevailing in this study. According to results founds at the present study, should be deepened losses in this kind of production system, with more details. On the other hand, the productive feature of these systems, mainly grazing feeding with low crowding, would explain no difference found with regards to stocking rate.

BRD are presented mainly on Fattening farmers on calves from weaning agreeing autumn and winter associated to environmental factors, mainly low temperature and host immunosuppressive condition. Despite being one of the diseases more describe and identified by farmers, only 28.6% (n=100), said applied vaccines against BRD. Furthermore, only 42% of the farmers applied a second dose, although the laboratory recommends revaccination 20 or 30 days after the first one (Suárez, 2006). With regards to activity productive, no differences were founded.

Neonatal calf diarrhea: Results showed positive association ($p=0.022$; $OR=1.74$) between NCD and CF y C systems but no differences according productive strata and stocking rate. Water, white or light yellow, generally acid and putrid smell defecation were observed on 30 days old calves. Diseases of multiple etiologic factors where different agents (*Rotavirus*, *Coronavirus*, *Escherichia coli*, *Salmonella sp.*, etc.) giving rise to digestives symptoms with pulmonary complications by *Pasteurella sp.*, Parainfluenza 3, etc. This kind of presentation has been referred to pneumoenteritis (Suárez, 2008). In fact, 21.8% of farmers reported calves with smelly and yellowish, white diarrhea as pneumoenteritis. This condition occurs in the first days of life, for this reason, all health action, are aimed at preventing cases by vaccination their mother (cows and heifers over the last month of pregnancy), through colostrum immunity. Although farmers (16.5%) reported the use of preventive vaccines, many of them (68%) did not repeat the second dose 30 days after the first one, despite manufacturer laboratory specifications that recommended for primary vaccinated cattle (pregnant heifers or unvaccinated cows) two doses with an interval of 15 to 30 days (Suárez, 2006). Probably, one reason is because farmers reduce their management practices when cows are in an advanced state of pregnancy.

Copper deficiency: This pathology can be produced by insufficient amount of copper on diet or excess of molybdenum or sulphate in the feeding or drink water. Both deficiencies have been reported in La Pampa province prevailed the second one (Pechin, 1995). Young cattle are more susceptible to copper deficiency, principally suckling calves with cows receiving insufficient copper in their diet. They can present signs from early age (2 or 3 months), (Radostitis et al, 2001). This des-

cription agreed with the results finding in the present survey, where calves had the higher prevalence. Although copper deficiencies was described in all categories, suckling calf, cows and heifers are shown at a higher rate, this would explain its association with CF. As regard to stocking rate, no differences were founded, This could be explained because this diseases is not associated with crowding.

Blackleg, Gas gangrene, and Enterotoxaemia (BGE): Cases of mortality, produced by different etiologic agent (*Cl. septicum*, *Cl. chauvoei*, *Cl. perfringens*, *Cl. sordellii* y *Cl. Novyi*), were reported frequently by owners although an important number of them vaccinated their herds to prevent these diseases. This could be due to the low percentage of farmers (37%) revaccinate their livestock after 20 or 30 days from the first application (label laboratory specifications) or lack of immunity response from commercial vaccines. Essay carried out at the Animal Health Unit of INTA Anguil about evaluation of several clostridial vaccines, showed that only 3 from 7 vaccines present a good protective level of serum antibodies against *Cl. chauvoei*, until 76 days post vaccination (Miranda et al., 2006). BGE were described mainly in calves this would explain its association with CF. No differences were founded as regard to stocking rate probably because most of surveyed field corresponding to productive system semi-intensive.

We did not find differences with respect to productive strata for any disease. This is probably due to the select farmers had more than 300 cattle. This situation probably would have changed if we had selected small-scale farmers, but this was not the subject of this epidemiological study.

CONCLUSION

The results give useful epidemiology information about several important pathologies for the north-east of La Pampa province and offer valuable information about risk distribution of these diseases. These results also help to take better decisions or to develop future studies to improve the competitiveness of meat production systems.

Acknowledgements

The authors thank farmers and veterinary for unselfish collaboration with the information pro-

vided, so also financial support from Minister of Production, Government of La Pampa province and National Institute of Agricultural Technology (INTA).

REFERENCES

- Berke Olaf, 2005. Exploratory spatial relative risk mapping. *Prev. Vet. Med.* 71, 173-182.
- Bosque Sendra J., 2000. *Sistemas de información geográfico*. Ed Rialp S.A., Madrid (2da Ed.) 453p.
- Cochran, W.G. 1997. *Técnicas de muestreo*. CECSA, México DF.
- Curtis C.R. y Farrar J.A. 1990. National Animal health monitoring system in the United States. *Prev. Vet. Med.* 8, 87-225
- Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. *InfoStat versión 2010*. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina
- Frankena, K ; Noordhuizen J.P, Willeberg P, van Voorhuysen P.F. y Goelema J. O., 1990. Episcopes, computer programs in veterinary epidemiology. *Vet. Rec.* 126, 573-576.
- Jones, T. C.; Hunt, R.D.; King, N.W. (Eds.) 1997. *Veterinary Pathology*. Sixth Edition. USA. Lippincott Williams & Wilkins. 1392 p.
- Miranda A.; Fort M.; Cerviño M.; Carloni, G. 2006. Evaluación de la respuesta serológica de vacunas comerciales frente a *Clostridium Chauvoei*. *Veterinaria Argentina*. 23 (221), 20-25.
- Morris R.S., Sanson R.L., McKenzie J.S. y Marsh W.E. 1993. Decision support systems in animal health. In: Society for veterinary Epidemiology and Preventive Medicine, Ed. Thrusfield M.V. 188-199.
- Pechin, G.; Cseh, S.; Corbellini, C.; Idiart, J.; Moralejo, R.; Visconti, M.; Drake, M.; Yarrar, M. 1995. Estudio de la deficiencia mineral en bovinos de carne en el departamento Maracó, provincia de La Pampa, Argentina. *Rev. Prod. Anim.* 15 (2), 492-494.
- Radostits, O.M.; Gay, C.C.; Bood, D.C.; Hinchcliff, K.W. 2001. *Medicina Veterinaria, tratado de las enfermedades del ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino*. Mc Graw Hill Interamericana, Novena Edición, 2, 1766 - 1784.
- Suárez, V.H.; Miranda, A.O.; Schmidt, E.E.; Arenas, S.M.; Lambert, J.; Schieda, A. Felice, G.; Imas, D.; Sola, E.; Pepa, H.; Bugnone, V.; Calandri, H. 2006. Características del manejo sanitario en el Este de la provincia de La Pampa. *Boletín de Divulgación Técnica EEA Inta Anguil*. La Pampa. Publicación técnica, INTA Anguil, La Pampa. 90, 111.
- Suárez, V.H.; Miranda A.O.; Schmidt, E.E.; Arenas S.M.; Schmidt, E.E.; Lambert, J.; Schieda, A.; Felice, G.; Imas, D.; Sola, E.; Pepa, H.; Bugnone, V.; Calandri, H. Lordi, L.; 2008. Prevalencia de patologías e incidencia de la sanidad en los sistemas bovinos en el este de la provincia de La Pampa, Argentina. *Veterinaria Argentina*. Vol. 25 (244), 258-280.
- Snowden, G.D.; Van Vleck, L.D.; Cundiff, L.V. Bennett, G.L. 2006. Bovine respiratory disease in feedlot cattle: Environmental, genetic, and economic factors. *J. Anim. Sci.* 84: 1999-2008.
- Van der Fels-klerx, H.J.; Sorensen, J.T.; Jalvingh, A.W.; Huirne, R.B.M. 2001. An economic model to calculate farm-specific losses due to bovine respiratory disease in dairy heifers. *Prev. Vet. Med.* 51: 75-94.

Miranda, A.¹; Sago, A.²

1. INTA EEA Anguil

2. SENASA, Centro Regional La Pampa – San Luis

Prevalencia y factores de riesgo a Equinocosis en canes en establecimientos con hallazgo de frigorífico compatible a hidatidosis bovina

RESUMEN

La hidatidosis es una zoonosis causada por el estadio larvario del *Equinococcus granulosus* (EG) que en su estado adulto se aloja en el intestino del perro. La inspección post-mortem en frigorífico, sumada a la identificación del establecimiento utilizando la trazabilidad de la tropa constituye una herramienta epidemiológica de gran utilidad. Para estimar su importancia se realizó un estudio observacional descriptivo retrospectivo, utilizando un muestreo por conveniencia a 25 establecimientos ubicados en la provincia de La Pampa, con el objetivo de determinar la prevalencia a EG, en establecimientos con hallazgo compatible a hidatidosis bovina en frigoríficos y evaluar factores de riesgo. Para determinar el origen de la tropa se utilizó la base de datos del Sistema Integrado de Gestión de Sanidad Animal (SIGSA) - SENASA, en tanto que para el análisis de factores de riesgo y toma de muestra de materia fecal canina, se encuestó y visitó a los productores en el propio establecimiento. Las muestras fecales fueron analizadas mediante la técnica de Copro-Elisa y confirmados por Western blot. Se halló una prevalencia del 11,5% (6/52) y 25% (5/20) en canes y establecimientos muestreados, respectivamente. En cuanto al análisis de riesgo, el 72% de los productores declaró la presencia de ovinos, porcinos y caprinos, el 78% de éstos, realizó faena domiciliaria en tanto que el 88% de los productores declaró alimentar a sus perros con vísceras cru-

das. El 75% de los productores desparasitó a sus perros con antihelmínticos, pero no siempre utilizó el apropiado para actuar frente a EG. Si bien las variables de riesgo estuvieron presentes, este trabajo no asoció la presencia de perros positivos a dichos factores de riesgo.

Palabras claves: prevalencia a *Equinococcus granulosus*; factores de riesgo, hallazgo faena.

SUMMARY

Hydatidosis is a zoonosis disease produced by larval stage of tapeworm *Equinococcus granulosus* (EG) that in adult stage is located in dog intestine. Post mortem inspection in slaughter jointly with farmer identification using livestock traceability is a great epidemiology tool. An observational, descriptive-retrospective study was carried out using a convenience sample of 25 farmers of La Pampa province. The objective of the study was to determinate the prevalence to EG in farms with compatible finding to hydatidosis in slaughter and to evaluate risk factors. A database of the Integrated Management System of Animal Health (SIGSA) – SENASA was used to identify the origin of the livestock. A survey in the farm was carried out to determinate risk factors and to sample canine feces. Fecal samples were analyzed by the Copro-elisa and confirmed by Western blot test. Prevalence of 11.5% and 25% in dogs and farmers was found, respectively. Toward analysis of risks

factors, 72% of the farmers declared to have sheep, pigs and goats, 78% of them slaughtered in the own farm and 88% said to feed their dogs with raw viscera. 75% of farmers dewormed their dogs with anthelmintic but not always they used drugs appropriate for the control against EG. Although these variables were present, this work did not associate to the presence of positive dogs with the risks factors.

Keys words: *Equinococcus granulosus* prevalence, risk factor, finding slaughter

INTRODUCCIÓN

La hidatidosis o equinococosis quística (EQ) es una zoonosis causada por el estadio larvario del cestode *Equinococcus granulosus* (EG), que en su estado de tenia (adulto) se aloja entre las vellosidades intestinales del perro. El hombre y el ganado huéspedes intermediarios contraen la enfermedad al ingerir los huevos del parásito, en cuyo caso el embrión liberado atraviesa la pared intestinal para ubicarse en el hígado, pulmón y otros órganos en los que se desarrolla la forma quística del parásito (estadio larval). El perro contrae la enfermedad cuando ingiere vísceras parasitadas con quistes hidatídicos fértiles, cerrándose de este modo el ciclo de vida del parásito (Rojo Vázquez, 1993).

La transmisión de la EQ está asociada fundamentalmente a factores sociales, económicos y culturales. La faena domiciliaria de ovinos adultos para consumo humano y la entrega de vísceras crudas resultantes a los perros, constituye el principal factor de difusión y persistencia de esta enfermedad.

La EQ representa un importante problema de salud pública y económica en aquellas regiones del mundo que presentan una economía básicamente ganadera, especialmente donde predomina la cría de ungulados de pequeño porte (ovinos, porcinos y caprinos).

La inspección postmortem en frigoríficos o mataderos, constituye una herramienta epidemiológica de gran utilidad en países con bajos recursos económicos para afrontar sistemas de vigilancias activos (Mansoorlakoora, 2011; Gebretsadik, 2009; Njoroge, 2002; Azlaf, 2006) En la República Argentina, se ha reportado a la Hidatidosis como un serio problema de salud

pública que provoca al mismo tiempo cuantiosas pérdidas en la ganadería (Larrieu, 1994). Las características agroecológicas y productivas de la Argentina permiten que esta enfermedad se encuentre ampliamente difundida, fundamentalmente en zonas rurales o urbanas de alto contacto con la actividad ganadera. Trabajos realizados por Miranda y col. (2010) y Dal Bianco y col. (2011), en bovinos inspeccionados en frigoríficos de La Pampa, reportaron prevalencias del 2.48% y 1.54% respectivamente. Por otro lado, en la provincia de Santa Fe, evaluando bovinos lecheros en frigoríficos, se reportaron lesiones en el 6.5% de los bovinos y el 25.5% de los rodeos, sugiriendo que el ciclo de la enfermedad podría estar sostenido por otros huéspedes intermediarios como bovinos y porcinos, ante la escasa población ovina existente (Abdala, 2009). Sin lugar a dudas el objetivo primordial en el control de hidatidosis sienta sus bases en la reducción de la incidencia de esta enfermedad en salud pública. En la provincia de La Pampa, no hubo hasta el año 1995, un programa de prevención y atención de la hidatidosis, sino experiencia puntuales. Así es como Larrieu (1996) reporta 6.25% y 17% de prevalencia en perros (prueba Arecolina), establecimientos agropecuario, respectivamente. Así mismo Lamberti (1999) reporta prevalencias algo inferiores en el norte de la provincia, arrojaron una prevalencia en perros y por establecimiento del 2,6%, 8,3% respectivamente. En el año 2005, Cavagión y col., utilizando la técnica de Copro-Elisa y Western blot, reporta prevalencias del 2,3% y 6,3% en canes y establecimientos, respectivamente. Estos resultados demuestran una vez más que, la provincia de La Pampa, no difiere de los resultados hallados en otras regiones de nuestro país considerados de media a alta prevalencia, demandando trabajos exhaustivos de amplia cobertura provincial, para poder determinar la verdadera prevalencia de EQ en nuestra provincia. El presente trabajo se plantea como objetivo aportar información epidemiológica a EQ en la provincia de La Pampa, Argentina.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio observacional descriptivo retrospectivo sobre 25 establecimientos ubicados en la Zona de Invernada o Estepa Pampeana de la provincia de La Pampa. Dichos estableci-

mientos presentaron hallazgo compatible a hidatidosis bovina en faena en el primer semestre del año en curso (2012). Se utilizaron datos pertenecientes a fuentes primarias y secundarias. En primer lugar se utilizó información constituida por datos estadísticos de hallazgos en faena en frigoríficos ubicados en la provincia de La Pampa, utilizando para ello la base de datos del SIGSA del SENASA. Se realizó un muestreo por conveniencia seleccionando establecimientos y/o tropas que presentaron preferentemente un número superior a 2 animales con hallazgo compatible a hidatidosis bovina con presencia de quistes de ubicación hepática y/o pulmonar. Una vez seleccionados los establecimientos, se llevó a cabo un cuestionario cara a cara el cuál brindó información sobre la identificación de la explotación, propósito productivo, existencias ganaderas bovinas y de otras especies, datos asociados a factores de riesgo como posibles condicionantes de la presencia de la enfermedad e información sobre el envío de la tropa a faena con hallazgo compatible a hidatidosis bovina.

Para el diagnóstico de EG, la toma de muestras de materia fecal canina se realizó de acuerdo al procedimiento determinado ad hoc establecido en la norma técnica y manual de procedimiento para el control de hidatidosis provisto por el Ministerio de Salud de La Nación (2009). Las muestras de materia fecal, fueron procesadas en el laboratorio del Instituto Malbrán, Buenos Aires, mediante la técnica de Copro-ELISA y confirmadas posteriormente mediante Copro-Western blot (Allan y col., 1992).

La información generada por el cuestionario se

analizó mediante métodos de estadística clásica descriptiva utilizando para ello el software de análisis epidemiológico EPIDAT 3.1 (Xunta de Galicia – OPS, 2006), e INFOSTAT v.2011 (Di Rienzo, 2011), fijándose un límite de significancia del 5% ($p=0.05$). Como medidas de asociación se utilizó χ^2 de Pearson y *Odds ratio* (OR), de acuerdo a factores de clasificación como diagnóstico positivo y/o negativo a EQ.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se encuestaron un total de 25 establecimientos con hallazgo positivo a hidatidosis en playa de faena, recolectando 52 muestras fecales distribuidas en 20 establecimientos, estableciéndose un promedio de $3 (\pm 1.2)$ perros por unidad de análisis/muestreo, 5 establecimientos no contaban con canes al momento de la visita.

Prevalencia a *Equinococcus granulosus*

Se determinó una prevalencia del 11,5% (6/52) y 25% (5/20) en canes y establecimientos muestreados, respectivamente. Estos resultados se encuentran por encima de los valores hallados para la provincia de La Pampa (Lamberti, 1999; Cavagión, 2005), pero debemos considerar que en el presente trabajo se utilizó un muestreo por conveniencia seleccionando solo aquellos establecimientos con hallazgo positivo a hidatidosis en faena. En la figura 1 podemos observar la distribución de los 25 establecimientos seleccionados con hallazgo positivo a hidatidosis en faena así como la distribución de los establecimientos con diagnóstico positivo y/o negativos a EQ en

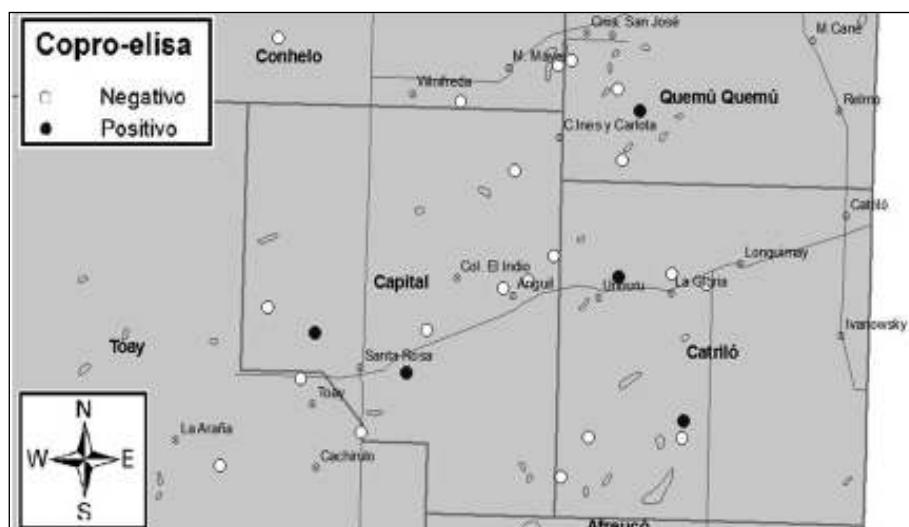


Figura 1: Mapa de distribución de los establecimientos encuestados y resultado del Copro-Elisa – Western blot, análisis de materia fecal canina.

Tabla 1: Análisis univariado sobre factores de riesgo en establecimientos positivos a EQ en perros.

Factor de riesgo	Proporción % (No/Total)	OR	IC 95%	Valor p
Presencia de ovinos	56 (14/25)	0.75	0.09-6.04	0.786
Presencia de cerdos	52 (13/25)	1	0.12-7.89	>0.999
Presencia de caprinos	12 (3/25)	-	-	0.389
Faena domiciliario	78 (18/23)	1	0.07-12.55	>0.999
Sistema de producción CC vs INV	76 (19/25)	0.61	0.04-8.7	0.717
Desparasita a los perros	75 (15/20)	0.68	0.05-8.14	0.765
Dan vísceras crudas a los perros	85 (17/20)	0.33	0.01-6.65	0.457
Nro. de perros por establecimiento (> a 2 vs < 2 canes por establ.)	55% (11/20)	0.76	0.11-5.08	0.795
Ingresan perros	72% (18/25)	0.29	0.02-3.47	0.3894

canes (puntos rojos), mediante la técnica de Copro-Elisa confirmado por Western blot.

Análisis de factores de riesgo

La hidatidosis bovina es una enfermedad ligada al consumo domiciliario de ovinos, porcinos y caprinos fundamentalmente por la entrega de vísceras crudas a los perros. En el presente trabajo se pudo constatar que el 72% de los productores declara la presencia de una u otra especie sola o simultáneamente en el establecimiento y que el 78% de éstos realiza faena domiciliaria. A pesar de presentarse ambas condiciones no se pudo asociar estadísticamente la presencia de perros positivos a EQ con estas variables de riesgo. (Tabla 1).

Sobre el total de los establecimientos encuestados el 56% (14) de los productores declaró tener ovinos sumando un total de 974 cabezas estableciéndose una existencia promedio de 69 (± 93) ovinos por establecimiento. Por otro lado se pudo determinar que sistemas más complejos con mayor mano de obra como son los de CC, estuvieron asociados a la presencia de ovinos ($X^2=4.96$; $p=0.026$) presuponiendo una mayor participación del grupo familiar en el área rural. En cuanto a la cría de porcinos, ésta se presentó en una proporción similar a la de ovinos con el 52% (13) de la totalidad de productores sumando en total de 219 cerdos en sus diferentes categorías. Se determinó una existencia promedio de 16 (± 14) cerdos por productor. El presente resultado

demuestra una vez más la relevancia de dicha actividad en la provincia de La Pampa, asociado fundamentalmente a características culturales de producción. En cuanto a caprinos, el 12% (3) de la totalidad de productores declaró la existencia de esta especie con una promedio de 13 (± 5) animales por establecimiento.

Una de las variables de gran importancia consideradas en el presente trabajo, fue la alimentación de los perros, el 88% (16) de los productores y/o encargados declararon alimentarlos con vísceras crudas pos faena de animales de consumo (corderos, lechones y chivitos) demostrando escaso conocimiento sobre el ciclo biológico de esta enfermedad así como de los riesgos para la salud humana que ello implica. El presente factor de riesgo cumpliría un rol epidemiológico fundamental en la transmisión y persistencia de la enfermedad en la población canina principalmente rural. Por otro lado solo el 15% de los productores alimenta únicamente a sus perros con balanceados y/o restos de comidas.

Sobre un total de 20 establecimientos que cuentan con canes el 75% (15) desparasita el 27% (4), 67% (10) y 7% (1) con una frecuencia de una, dos y tres veces por año respectivamente; el 25% (5) restante no desparasita a sus canes. En cuanto al análisis de riesgo y contrariamente a un resultado esperable, la prevalencia de la enfermedad fue más baja (20%) para el grupo expuesto (No desparasitan) que para el grupo no expuesto al riesgo (26%) (desparasitan) no hallándose dife-

rencias para esta variable (tabla 1). Estos hallazgos podrían deberse a que muchos productores declaran desparasitar a sus perros con drogas endectocidas (ivermectinas, doramectinas, etc.) efectivas para el tratamiento de gusanos redondos no así frente a gusanos chatos (tenias) como es el caso de nuestro estudio. Esta información fue precisada parcialmente por algunos productores por ello no se incluyó en el análisis.

De los 25 establecimientos encuestados el 72% (18) declaró haber visto canes de otros campos o de cazadores en su establecimiento en tanto que el 28% (7) contestó negativamente a esta consulta. Esta situación se presentó principalmente en aquellos campos cercanos a localidades, zonas urbanizadas o rutas. Esta variable fue analizada como posible factor de riesgo no hallando diferencias estadísticas (tabla 1).

Una de las actividades socioculturales del ámbito rural lo constituye la propia producción de verduras en huertos cercanos a los hogares, lugar comúnmente frecuentado y utilizado por los canes para realizar sus deposiciones. En el presente trabajo se determinó que el 16% (4) de los establecimientos contaban con huertas cuya producción era consumida por la gente establecida en el campo o que vivían en localidades cercanas. Si bien esta situación podría constituirse en una variable de riesgo para la salud humana, se pudo determinar que ninguno de los canes con resultado positivo pertenecía a establecimientos que realizaban huerta.

Realizada la consulta sobre antecedentes de personas conocidas que cursaran esta enfermedad, solamente en un establecimiento (4%) se manifestó conocer a un familiar con esta patología, mientras el 96% (24) no tenían conocimiento sobre personas afectadas. Las características de cronicidad que manifiesta la hidatidosis en humanos, falta de sintomatología específica que nos pueda orientar sobre un diagnóstico y en muchos casos el arribo a un diagnóstico como hallazgo en exámenes en buscar de otras enfermedades, hacen a esta enfermedad de aparición esporádica y fortuita. Esta situación posiblemente sea la responsable del poco conocimiento como problema de salud pública.

Los huevos del EG llegan al hombre a través de la ingesta de verduras crudas regadas con agua contaminada por la materia fecal del perro, por la

ingesta de agua contaminada, por contacto directo y/o falta de higiene. En ese contexto epidemiológico la calidad del agua de bebida para el consumo humano adquiere gran relevancia. En el presente trabajo el 56% (10) de los productores declara consumir agua de perforación, en tanto que el 44% (8) se proveía de agua en bidones adquiridos en las localidades más cercanas. Estos cambios de hábitos, observados en las últimas décadas, originados por una mala calidad de las aguas subterráneas (altas concentraciones de Arsénico, Fluor, y de Sales Totales), sumado una mayor concientización por parte de la población urbana y rural en lo concerniente al contagio de ciertas enfermedades, han conducido a utilizar aguas química y bacteriológicamente aptas para el consumo humano, disminuyendo de esta manera la trasmisión de enfermedades.

En la siguiente tabla se muestra el análisis univariado sobre los factores de riesgo asociados a la presencia de canes con EQ diagnosticado mediante la técnica de Copro-Elisa.

Si bien el consumo de bovinos raramente es domiciliario, la gran diversidad en el movimiento de hacienda hallada en el presente trabajo, podría jugar un rol importante en la difusión de la enfermedad.

La falta de asociación entre las variables de riesgo consideradas y la presencia de canes positivos a EQ pudo deberse a que los establecimientos utilizados en el presente trabajo, establecimientos con hallazgo positivo en faena, en su gran mayoría, los animales contrajeron la enfermedad en otro establecimiento y no el establecimiento objeto de estudio.

Alimentación del ganado como factor de infección de los bovinos

La vía de contagio del huésped intermediario ocurre por la ingesta de huevos de EG fundamentalmente al consumir pastos o alimento concentrado (granos, balanceados, etc.) que han estado en contacto con la materia fecal de perros parasitados. Muchas veces el grano es almacenado en galpones los cuáles tienen acceso los canidos, quienes defecan sobre el mismo. Por otro lado la cría de ovinos y porcinos que en muchos casos conviven con las personas encargadas del cuidado de la hacienda, son factores que incrementan el riesgo de contagio y trasmisión de la EQ. En ese

contexto y considerando la presencia de quistes hidatídicos en bovinos, se consideró a la alimentación como un factor altamente relevante en el presente trabajo.

En cuanto al sistema de producción Cría de bovinos, la alimentación estaba basada fundamentalmente en sistemas puramente pastoriles 53% (10) con el agregado de suplementos (rollos y granos) en el 47% (9) de los establecimientos. En tanto que en la recría los sistemas pastoriles representaron el 8% (2), pastoril más encierre el 28% (7), pastoril más suplementación (rollo y grano) el 60% (15) y por último el 4% (1) aquellos que realizan Feedlot. De acuerdo a la opinión de los productores, el 92% (23) suministra grano seco/húmedo para alimentar el ganado, esto demuestra que el suministro de grano, como parte de la dieta forrajera del ganado, constituye una herramienta ampliamente difundida. Esta situación jugaría un rol fundamental como factor predisponente favoreciendo de esta manera las posibilidades de contagio de los animales. Sobre la totalidad de campos con perros positivos a la prueba del Copro-elisa Western blot y con hallazgo a hidatidosis en faena, solo un productor no suministró granos a su ganado. Esta situación podría explicarse considerando que dicho productor envió a faena vacas provenientes una zona/provincia endémica a hidatidosis, presuponiendo una infestación previa del ganado. Por lo comentado anteriormente se sugiere cercar los silos que actúan como depósito del grano, así como no permitir el ingreso de los animales a dichos lugares, de esta manera se cortaría la cadena epidemiológica del parásito.

CONCLUSIÓN

De acuerdo a los resultados del presente trabajo, podemos concluir que las prevalencias halladas en canes del área bajo estudio, no difieren de aquellas encontradas en otras provincias de nuestro país en donde la enfermedad se presenta de carácter endémico. Por otro lado, obliga a repensar estrategias de vigilancia en base a un criterio más amplio, abarcando áreas del territorio provincial en las cuales, los factores de riesgo a hidatidosis se presentan con más frecuencia que en las del presente estudio.

Se sugiere prestar especial atención al almacenamiento del grano.

BIBLIOGRAFÍA

- Allan, J.C., Craig, P.S., García Noval, J., Mencos, F., Liu, D., Wang, Y., Wen, H., Zhov, P., Stringer, R., Rogan, M., Zehle, E., 1992. Coproantigen detection for immunodiagnosis of echinococcosis and taeniasis in dog and humans. *Parasitol.* 104, 147-355.
- Abdala, A.A.; Tarabla, H.D. 2009. Detección de rodeos lecheros con hidatidosis a partir de información proveniente de frigoríficos. *FAVE – Ciencias Veterinarias* 8 (2) 23-27.
- Azlaf, R.; Dakkak, A. 2006. Epidemiological study of the cystic echinococcosis in Morocco. *Veterinary Parasitology.* 137, 83-93.
- Cavagión, L.; Perez, A.; Santillán, G.; Zanini, F.; Jensen, O.; Saldía, L.; Diaz, M.; Cantoni, G. Herrero, E.; Costa, M.; Volpe, M. Araya, D.; Alvarez Rubianes, N. Aguado, C.; Meglia, G.; Guarnera, E.; Larrieu, E. 2005. Diagnosis of cystic echinococcosis on sheep farms in the South of Argentina: area with a control program. *Veterinary Parasitology* 128 (73-81)
- Dal Bianco, J.; Sago, A.; Miranda, A. 2011. Mapeo del riesgo relativo a hidatidosis bovina en la provincia de La Pampa y San Luis. Hallazgo en faena. 2a ed. Anuario INTA-SENASA. Información agropecuaria para la gestión y toma de decisiones. Vinculación y articulación interinstitucional. Bs As. Ediciones INTA, 32 p.
- Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. InfoStat versión 2011. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- EPIDAT. 2006. Xunta de Galicia, Organización Panamericana de la Salud OPS/OMS. Versión 3.1
- Gebretsadik Berke. 2009. Abattoir survey on cattle hydatidosis in Tigray Region of Ethiopia. *Trop Anim Health Prod.* 41, 1347-1352.
- Lamberti, R.; Calvo, Cl.; Pombar, A.; Gino, L.; Alvarez, E.; Aguado, C.; Larriue, E.; 1999. Hidatidosis en la provincia de La Pampa, Argentina, 1998. *Bol. Chil. Parasitol.* Vol 54 (3-4).
- Larriue E.; Costa, M.T.; Cantoni, G.; Alvarez, J.; Aquino, A.; Giménez, N.; Pérez, A. 1994 Control de hidatidosis en la provincia de Río Negro Argentina: Evaluación Actividades de Atención Veterinaria (1). *Rev San Hig Púb:* 68: 197-202.
- Larriue E.; Lamberti, R.; Alvarez, E.; Cavagión, L.; Calvo, C. 1996. Situación de la hidatidosis en General Acha. *Bol. Chi. Parasitolo.* 51: 95-97.
- Mansoorlakooraaj, H.; Saadati, D.; Javadi, Reza, J.; Heydari, S.; Torki, E.; Gholami, H.; Mazaheri Nezhad Fard, R. 2011. A survey on hydatidosis in livestock in

Northern Iran based on data collected from slaughterhouses from 2004 to 2008. *Veterinary Parasitology* 182, 364-367.

- Miranda, A. O.; Pinciroli, H.; Sago, A.; Dal Bianco, J. 2010. Mapeo del riesgo relativo a hidatidosis bovina en la provincia de La Pampa y San Luis. Hallazgo en faena. 1a ed. Anuario INTA-SENASA. Información agropecuaria para la gestión y toma de decisiones. Vinculación y articulación interinstitucional. Bs As. Ediciones INTA, 44 p.

- Njoroge, E.M.; Mbithi, P.M.F.; Gathuma, J.M.; Wachira, T.M.; Gathura, P.B.; Magambo, J.K.; Zeyhle, E. 2002. A study of cystic echinococcosis in slaughter animals in three selected areas of northern Turkana, Kenya. *Veterinary Parasitology* 104, 85-91.

- Rojo Vázquez, Francisco A. 1993. Acerca de la epidemiología, profilaxis y control de hidatidosis. 1 ed. Junta de Castilla y León. 106p.

Resistencia antihelmíntica en la Región Pampeana: Principales factores de riesgo implicados en el desarrollo de resistencia antihelmíntica

RESUMEN

El uso continuo de antihelmínticos y algunas prácticas de manejo han favorecido probablemente la aparición de resistencia antihelmíntica (RA). El objetivo del presente estudio fue determinar los factores de riesgo involucrados en el desarrollo de RA en base a la comparación del manejo en distintos sistemas de producción. Un estudio observacional del tipo caso-control fue realizado para identificar aquellas prácticas de manejo que “incrementan la probabilidad” de desarrollo de resistencia antihelmíntica. Cincuenta (50) establecimientos fueron encuestados, un grupo con RA (casos) y un grupo sin RA (control), luego fueron comparados con respecto a la presencia de los hipotéticos factores de riesgo. El estudio de factores de riesgo determinó que las principales medidas de manejo implicadas en el desarrollo de RA fueron la frecuencia de 3 o más tratamientos antihelmínticos aplicados durante el año, los programas de control basados en tratamientos de tipo estratégico o prefijado, la escasez de larvas en refugio y los tratamientos de verano. Estos resultados muestran la importancia del uso correcto de los antihelmínticos, la aplicación de programas de control que consideren la importancia de larvas en refugio, especialmente en los tratamientos de verano. Es necesario impulsar programas de control parasitario racional e integrado para evitar la aparición de RA y preservar la eficacia de las drogas antihelmínticas.

INTRODUCCIÓN

La resistencia antihelmíntica (RA) es 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 (Prichard, 1994). La resistencia se produce cuando poblaciones inicialmente susceptibles a la acción de un antihelmíntico dejan de serlo debido a cambios genéticos heredables de generación en generación y es percibida cuando la droga que es inicialmente efectiva deja de serlo.

Como resultado del uso indiscriminado y continuo del recurso químico y la aplicación de estrategias de control desacertadas, se favoreció muy probablemente la selección de resistencia antihelmíntica, RA (Van Wyk, 2001). Este fenómeno se encuentra en pleno proceso de expansión en nuestro país y en el mundo y representa una amenaza para la producción bovina nacional cuyo control parasitario depende sustancialmente del uso de antihelmínticos para mantener altos niveles de productividad.

La evaluación de la presencia de RA en la región pampeana demostró que de un total de 25 campos evaluados 16 campos (64%) presentaban resistencia y 8 campos (36%) presentaban susceptibilidad a las drogas probadas. Altos niveles de RA a ivermectina fueron encontrados, también varios establecimientos con resistencia a benzimidazoles fueron observados (Suárez y Cristel, 2007).

El manejo de las pasturas y recursos forrajeros, las estrategias de control parasitario y el manejo integrado de los animales son decisiones frecuentes que deben tomarse en el ámbito productivo ganadero y que deben por lo tanto, ser rigurosamente revisadas en el contexto de RA como posibles causas predisponentes de selección de resistencia antihelmíntica. El objetivo del presente estudio fue determinar los principales factores de riesgo involucrados en el desarrollo de RA en base a la comparación del manejo en distintos sistemas de producción.

Causas predisponentes de selección de resistencia antihelmíntica

Definiremos como factores de riesgo aquellas prácticas de manejo que “incrementan la probabilidad” de desarrollo de resistencia antihelmíntica a nivel rodeo dentro del sistema de producción. Algunos autores (Coles, 2002; Van Wyk, 2001) coinciden que su desarrollo implica factores tales como la proporción de parásitos en refugio y la frecuencia de tratamiento con una misma droga. La presión de selección ejercida por el tratamiento puede combinarse con otros factores que podrían potenciar la selección de genotipos resistentes tales como tratamiento en pasturas sin refugio, hecho frecuente durante el verano, o introducción a verdes o pasturas nuevas durante el invierno.

Refugio

El concepto de nematodos en refugio se puede explicar como el número de parásitos que escapan al tratamiento y por lo tanto no son expuestos a la droga, evitando la selección de resistencia. El rol de una población de nematodos en refugio, es limitar (mediante la dilución) el aporte genético de alelos resistentes de los vermes que se generan con posterioridad a un tratamiento. Cualquier manejo que suprima o reduzca las formas de vida libre de una pastura mediante el uso de un antihelmíntico, acelera y es muy efectivo en desarrollar RA (Van Wyk, 2001; Silvestre et al., 2002).

Presión de selección y frecuencia de tratamientos

Cualquier tipo de herramienta o manejo para el control de parásitos que provoque un cambio en la constitución génica de la población de parásitos a favor de la generación de nematodos resis-

tentes estaría ejerciendo presión de selección, como por ejemplo la ejercida por el uso intensivo de antihelmínticos RA (Coles, 2002; Silvestre et al., 2002).

Los nematodos que sobreviven al tratamiento antihelmíntico contribuyen a una gran parte de la generación subsiguiente de nematodos resistentes. Sin embargo el desarrollo de RA depende mayormente de una eficiente presión de selección que no sólo se relaciona con el número de tratamientos sino con la población de parásitos en refugio (Van Wyk, 2001).

Programa de Tratamientos

En relación a lo expuesto anteriormente además de la frecuencia de los tratamientos antihelmínticos, otro factor a tener en cuenta es a que motivos obedece el planteo de los programas de control al cual estaban sujetos los establecimientos. En un estudio realizado en la región subhúmeda y semiárida pampeana el 60% de los campos utilizaban tratamientos estratégicos o prefijados, en los cuales el motivo de desparasitación se ajusta a un calendario prefijado, es decir con un estrategia predeterminada establecida por diferentes razones por el propietario o asesor. Dichos tratamientos prefijados muestran estar asociados a la variable “presión de selección y frecuencia de tratamientos” y por lo tanto a la presencia de RA. Estos tratamientos en general demuestran un abuso en el uso de antihelmínticos, ya que muchas de estas dosificaciones no se justifican, existiendo potenciación de este factor con la frecuencia de tratamientos mayor a 3 en el desarrollo de RA.

Época del año al momento del tratamiento

La aplicación de tratamientos antiparasitarios estratégicos en un período de bajos niveles de infectividad de las pasturas (consecuencia de la mortalidad de larvas que se produce en el verano) generará posiblemente una alta presión de selección (Nari, 1987) ya que la progenie de los individuos resistentes será preponderante sobre una reducida población de larvas susceptibles en refugio.

Otras características y prácticas de manejo que se deben tener en cuenta dentro del contexto de la RA son región, sistema de producción, carga animal, proporción de terneros, edad de tratamiento, raza, manejo de pasturas (dentro del cual

se incluyen prácticas como: porcentaje de superficie ganadera destinada a verdeos, tratamiento antes de ingresar los animales a un verdeo o pasturas nuevas, y cambiar los animales de potrero luego del tratamiento), engorde a corral, tratar a la recría del engorde a corral, tratamientos con un solo principio activo y subdosificación.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo en 50 establecimientos ganaderos con distintos sistemas de producción bovina, ubicados en las provincias de La Pampa, Buenos Aires, Córdoba, San Luis, Santa Fe y Entre Ríos como integrantes de las subregiones agroclimáticas húmeda, subhúmeda y semiárida pampeana.

En estos establecimientos en principio se determinó la presencia o ausencia de RA a través de la “Prueba de Reducción del Conteo de Huevos” (PRCH), método estándar de elección para la detección de RA a campo según la World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) Coles et al., 1992.

Para analizar los posibles factores de riesgo asociados al desarrollo de RA se llevó a cabo un estudio observacional del tipo caso-control o retrospectivo (Stevenson, 2004; Wayne Martin et al., 1987; Thrusfield, 1986) donde se realizó una comparación de los establecimientos con resistencia y sin resistencia con respecto a la presencia-ausencia de los factores de exposición obtenidos de los datos de las encuestas que identifican las distintas prácticas de manejo que se realizan en diversos sistemas de producción pertenecientes a distintas zonas de la región pampeana.

Encuesta

Las encuestas fueron realizadas vía telefónica y correo electrónico a Productores, Méd. Veterinarios e Ing. Agrónomos encargados de los establecimientos dedicados a la cría, invernada, ciclo completo, cabaña y/o tambo, donde se había realizado con anterioridad el diagnóstico de Resistencia a través de la PRCH.

Dichas encuestas estuvieron basadas en un cuestionario que puntualizó sobre prácticas inherentes al manejo de la producción y uso de pasturas, con especial énfasis en el control parasitario y tratamientos antihelmínticos que pudieran estar asociados a la aparición de RA. A partir de aquí

surgieron diversas variables o factores de riesgo que fueron evaluados por separado.

Estudio Caso-control

Análisis de posibles factores de riesgo

Para el análisis de variables y estimación de riesgo se utilizó un estudio observacional del tipo caso-control o estudio retrospectivo clasificándose a los establecimientos en base a los resultados de las PRCH en campos con resistencia y sin resistencia, definiéndose como:

- **Caso:** *Campos con Resistencia Antihelmíntica:* aquellos establecimientos agropecuarios donde la prueba de reducción del conteo de huevos fue inferior al 95% (según método WAAVP) en cualquiera de los antihelmínticos evaluados.
- **Control:** *Campos sin Resistencia Antihelmíntica:* aquellos establecimientos donde la prueba de reducción del conteo de huevos fue superior al 95% (según método WAAVP) en todos los antihelmínticos evaluados.

Para el estudio de los factores de riesgo en el desarrollo de Resistencia Antihelmíntica se analizaron todas aquellas variables explicatorias o factores de riesgo que en el planteo del manejo de la producción ganadera se presume que incrementan la probabilidad de RA en el establecimiento.

El propósito de este estudio fue explorar el nivel de factores de riesgo para RA y cuantificar la asociación entre presencia-ausencia de RA y los hipotéticos factores de riesgo. Entonces se realizó la comparación de la frecuencia de exposición entre los casos (Resistencia) con la frecuencia de exposición entre los controles (Susceptibles) a las siguientes variables estudiadas: refugio, presión de selección y frecuencia del tratamientos, programa de tratamientos, región, sistema de producción, carga animal, proporción de terneros, edad de tratamiento, raza, época del año al momento del tratamiento, manejo de pasturas (dentro del cual se incluyen prácticas como: porcentaje de superficie ganadera destinada a verdeos, tratamiento antes de ingresar los animales a un verdeo o pasturas nuevas, y cambiar los animales de potrero luego del tratamiento), engorde a corral, trata a la recría del engorde a corral, tratamientos con un solo principio activo y subdosificación.

Para comprobar si existen diferencias significativas entre grupos expuestos y no expuestos a

los distintos factores se realizó la prueba de Chi cuadrado (χ^2) con los datos organizados en tablas de contingencia.

Para analizar el grado de asociación de cada uno de los hipotéticos factores causales o factores de riesgo con el desarrollo de RA se utilizaron métodos de epidemiología clásica para medir la fuerza, el efecto y la importancia de la asociación por medio de medidas odds ratio (OR), fracción atribuible estimada (FAE) y fracción atribuible poblacional estimada (FAPE) respectivamente (Dohoo et al., 2003; Noordhuizen et al., 2001)

Finalmente aquellas variables con un grado de significancia inferior a 25%, lo que implica mayor probabilidad explicativa de RA, fueron incorporadas en un modelo de regresión logística el cual permite modelar la relación entre la variable dependiente de naturaleza dicotómica (Resistencia-no Resistencia) en relación a una o más variables independientes o regresoras (variables como los posibles factores de riesgo).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se resumen los valores obtenidos de las variables estudiadas para comprobar si existen diferencias significativas entre grupos expuestos y no expuestos a los distintos factores de riesgo evaluados.

Refugio

El estudio del factor de riesgo refugio se analizó en base al índice de escaso refugio a partir del valor 41 (valor mediana), el resultado fue significativo, por lo tanto aquellos establecimientos cuyas prácticas de manejo producen un valor índice mayor a 41 tienen más riesgo de desarrollar resistencia (OR=3,7). El 73,5% de resistencia en el grupo expuesto es atribuible a la falta de refugio (FAE=0,735). El 48% del total de resistencia en la población es imputable a este factor de exposición (FAPE=0,481).

Presión de selección y frecuencia de tratamientos

El 68% de los establecimientos estudiados (34 campos) dosificaban 3 o más veces al año. A partir de 3 o más tratamientos el riesgo es altamente significativo y existe una clara asociación entre el número de tratamientos mayor a 3 y la presencia de resistencia antihelmíntica. El valor OR =41,66

indica que estos establecimientos tienen 41,66 veces más riesgo de desarrollar RA que el resto (16 campos) por haber estado expuestos a una frecuencia de tratamientos mayor a 3. El 97,6% de resistencia en el grupo expuesto es atribuible al uso de 3 o más tratamientos en el año (FAE=0,976). El 93,8% del total de resistencia en la población es imputable al este factor de exposición (FAPE=0,938).

Programa de tratamientos

El programa de tratamientos define que estrategia usa el productor al momento de realizar los tratamientos antihelmínticos. Denominamos aquí tratamientos estratégicos a aquellos tratamientos prefijados por calendario, el motivo de desparasitación se ajusta a un calendario prefijado, por otro lado están los tratamientos tácticos que comienzan generalmente con un tratamiento fijo al destete y/o ingreso de hacienda al campo, y luego se reiteran los tratamientos a lo largo del año por determinación de hpg o condición corporal o estado sanitario de los animales.

El 60% de los establecimientos utilizaban tratamientos prefijados, cuyo valor estadístico fue altamente significativo demostrando asociación entre este tipo de programa de tratamientos y la presencia de RA. El valor OR demostró un riesgo de desarrollo de resistencia 4,6 veces mayor para aquellos establecimientos que utilizan tratamientos prefijados en relación a los campos que utilizan otros programas de tratamientos. El 78,5% de resistencia en el grupo expuesto es atribuible al uso de tratamientos prefijados (FAE=0,785). El 61,5% del total de resistencia en la población es imputable al este factor de exposición (FAPE=0,615).

Sin embargo cabe aclarar que existe correlación entre esta variable y la variable “presión de selección y frecuencia de tratamientos” (coeficiente de correlación $r=0,45$), demostrando asociación entre estas 2 variables, motivo por el cual ambas variables presentan altos valores en la fracción atribuible estimada y fracción atribuible poblacional estimada, existiendo superposición de estos dos factores en la imputación de los mismos en el desarrollo de RA.

Época de año al momento del Tratamiento

Los tratamientos en aquella época del año donde hay baja infectividad de las pasturas debi-

Factores de riesgo	X ²	P-valor	OR	FAE	FAPE
Refugio	5,1	0,024	3,7	73,5%	48%
Frecuencia de Ttos	19,7	0,000	41,6	97%	93%
Programa de Ttos	6,4	0,010	4,6	78,5%	61,5%
Región					
Sistemas de producción	0,7	0,374	1,6	40	20
Carga animal	0,7	0,386	1,6	39,5	21,4
Proporción de terneros	0,8	0,355	1,7	41,6	19,2
Edad de tratamiento	1,2	0,256	2,4	58,4	27,2
Raza	0,4	0,488	1,5	34,1	13,1
Época del año de Ttos	5,1	0,024	3,7	73,5%	48%
Porcentaje de verdes	1,2	0,271	0,5	88,9	30,7
Tto antes de ingreso	1,3	0,238	2,0	50,5	28,5
Cambia de potrero p-tto	0,7	0,401	0,5	70	18,2
Engorde a corral recría	3,5	0,06	8,4	10	4
Tta a recría corral	0,0	1,00	1,0	0	0
Ttos con 1 droga	0,06	0,807	1,1	15	11,5
Subdosificación	0,07	0,786	0,8	16,7	7

Tabla 1. Factores de riesgo asociados al desarrollo de RA en 50 establecimientos bovinos.

Tabla 2. Modelo de regresión logística multivariada referente al status de RA en 50 establecimientos bovinos.

Variables	Coefficiente	Error.Est.	Odd	Chi ²	P valor
Constante	-3,00	1,19	0,05	6,30	0,0121
Índice de escaso refugio	-2,02	1,58	0,13	0,01	0,2006
N° tratamientos (>3)	3,52	1,20	33,95	8,58	0,0034
Programa de tratamientos	1,36	0,80	3,91	2,90	0,0888
Tratamientos de verano	1,67	1,46	5,32	1,31	0,2527

do a la mortalidad de larvas por condiciones ambientales adversas, son un factor de riesgo que muestra asociación con el desarrollo de RA. Su significancia estadística fue alta y aquellos establecimientos que ejercitan esta práctica tienen 3,77 veces más riesgo de desarrollar RA que aquellos que no desparasitan en época de verano (OR = 3,778). El 73,5% de resistencia en el grupo expuesto es atribuible a tratamientos de verano (FAE = 0,735). El 48% del total de resistencia en la población es imputable a este factor de exposición (FAPE = 0,480).

Aquellas variables que resultaron significativas a la prueba de Chi cuadrado (X²) fueron incorporadas en un modelo de regresión logística (Tabla 2) el cual permitió modelar la relación entre la variable dependiente de naturaleza dicotómica Resistencia-no Resistencia en relación a los factores: índice de escaso refugio, frecuencia de tratamientos (3 o más), programas de trata-

mientos, y tratamientos de verano. La variable categorizada número de tratamientos (3 o más) resultó estadísticamente significativa dentro del modelo de regresión logística.

Factores de riesgo implicados en el desarrollo de RA

Refugio

A pesar de las diferencias en el desarrollo de resistencia entre sistemas bovinos y ovinos (Coles, 2002), estudios en Nueva Zelanda sobre prácticas de manejo en campos ovinos asociadas a resistencia encontraron asociación positiva entre la presencia de RA (sobre todo a lactonas macrocíclicas) y cualquier práctica de manejo que tienda a disminuir la población de parásitos susceptibles en refugio. El presente trabajo concuerda con este concepto y evaluando las prácticas de manejo usuales en sistemas de producción bovi-

na se encontró una asociación positiva entre la presencia de RA y la falta o escasez de larvas en refugio en plena coincidencia con autores como Coles, (2002) y Van Wyk, (2001), quienes afirman que la proporción de parásitos en refugio y la frecuencia de tratamiento intervienen en el desarrollo de RA.

Para respaldar esta aseveración y tratar de analizar en forma integrada diferentes factores que contribuyen al concepto de refugio, se evaluaron en conjunto bajo la figura de un valor índice denominado índice de escasez de refugio diversos factores o elementos que influyeron de forma positiva en la disminución de larvas infectantes en refugio. Dichos factores están relacionados al escaso refugio y su presencia y combinación aumentan el valor índice convirtiéndose en uno de los factores de riesgo significativos dentro de este estudio. Los resultados en este trabajo en cuanto al refugio muestran que aquellos establecimientos cuyas prácticas de manejo aumentan el valor índice tienen mayor riesgo de desarrollar resistencia. Tales factores relacionados en un índice como los tratamientos en verano, los tratamientos en animales adultos, los tratamientos en animales que recrían en corral que luego regresan a las pasturas, y los ingresos a pasturas nuevas o verdeos luego de un tratamiento antiparasitario se asocian a la presencia de RA, cuando por separado solo algunos muestran influir en la presencia de RA. La importancia del factor refugio obtenida en esta evaluación también coincide con uno de los 3 factores expuestos por Silvestre et al., (2002) en una revisión de varias encuestas realizadas en Francia y Marruecos en campos dedicados a la producción de carne ovina y leche caprina donde el tercer factor de importancia en el desarrollo de RA fue el tamaño de la población de larvas en refugio al momento del tratamiento.

Presión de selección y frecuencia de tratamientos

Por otro lado, la frecuencia de tratamientos que fue el principal factor asociado a RA en esta encuesta, que se realizan como medida de manejo para el control de parásitos provoca un cambio en la constitución génica de la población de parásitos a favor de la generación de nematodos resistentes. Existe según Coles (2002); Silvestre et al., (2002) una presión de selección ejercida por el

uso intensivo de antihelmínticos. Los resultados de este estudio muestran que a partir de 3 o más tratamientos, el riesgo es altamente significativo y existe una clara asociación entre el número de tratamientos mayor a 3 y la presencia de resistencia antihelmíntica. Los valores resultantes indican que el 68% de los campos tuvieron 41 veces más riesgo de desarrollar RA que el resto de los establecimientos por haber estado expuestos a una frecuencia de tratamientos mayor a 3.

Programa de Tratamientos

En relación a lo expuesto anteriormente además de la evaluación de la frecuencia con que los establecimientos realizan los tratamientos antihelmínticos, los resultados de este estudio con respecto al programa de control al cual estaban sujetos los establecimientos muestran que un 60% de los campos utilizaban tratamientos estratégicos o prefijados, en los cuales el motivo de desparasitación se ajusta a un calendario prefijado, es decir con un estrategia predeterminada establecida por diferentes razones por el propietario o asesor. Dichos tratamientos prefijados muestran estar asociados a la variable “presión de selección y frecuencia de tratamientos” y por lo tanto a la presencia de RA. Mientras que los establecimientos que realizan tratamientos tácticos que comienzan generalmente con un tratamiento fijo al destete y/o al ingreso de hacienda al campo, y luego se reiteran los tratamientos a lo largo del año por determinación de los valores de hpg o condición corporal y/o estado sanitario de los animales no estuvieron asociados a RA. Este análisis demostró que los tratamientos estratégicos o prefijados, tenían un valor estadístico altamente significativo demostrando asociación entre este tipo de programa de tratamientos y la presencia de RA. El valor OR demostró un riesgo de desarrollo de resistencia 4,6 veces mayor para aquellos establecimientos que utilizaban tratamientos prefijados en relación a los campos que utilizaban otros programas de tratamientos. Al ver en forma particular estos tratamientos en general se observó un abuso en el uso de antihelmínticos, ya que muchas de estas dosificaciones no se justifican, existiendo potenciación de este factor con la frecuencia de tratamientos mayor a 3 en el desarrollo de RA.

Época del año al momento del tratamiento

El verano es un período de bajos niveles infectividad de las pasturas debido a la mortalidad de larvas por condiciones ambientales adversas, durante esta época la principal fuente de contaminación de pasturas traducida en refugio y principal fuente de contaminación de terneros de destete se produce por la eliminación de huevos durante fines de verano principio de otoño (Suárez y Lorenzo, 2000; Suárez y Lorenzo, 2001), los tratamientos realizados durante esta estación provocan una disminución de este refugio y la consecuente eliminación de huevos resistentes.

La aplicación de tratamientos antiparasitarios en verano (período de bajos niveles infectividad de las pasturas debido a la mortalidad de larvas por condiciones ambientales adversas), es un factor de riesgo que demostró asociación directa con el desarrollo de RA. Su significancia estadística en la presente evaluación fue alta y aquellos establecimientos que ejercitan esta práctica poseen más riesgo de desarrollar RA que aquellos que no desparasitan en época de verano, pues estos tratamientos generan una alta presión de selección ya que la progenie de los individuos resistentes será preponderante sobre una reducida población de larvas susceptibles en refugio afectadas por las desfavorables condiciones climáticas.

El concepto aquí vertido es coincidente como término analógico con Hughes et al., (2007), quien plantea que en sistemas ovinos ingresar los corderos destetados en algún lote no pastoreado por ovinos desde el invierno provoca una disminución en la población de parásitos susceptibles en refugio debido a que en este caso el género predominante *Haemonchus* es sensible a bajas temperaturas invernales y no sobrevive.

CONCLUSIONES

El estudio de los factores de riesgo permitió avanzar en el conocimiento de aquellos factores y medidas de manejo implicadas en el desarrollo de RA, como lo son el uso reiterado de productos químicos a lo largo del año productivo, aún en circunstancias innecesarias y los programas de control instalados en el medio productivo ganadero, que no siempre están bien planteados y responden a una tendencia de uso irracional sin bases epidemiológicas propias del parásito. Sumado a

esto se destaca la importancia de las larvas de refugio, concepto que en la mayoría de los casos no es tomado en cuenta a la hora de proponer los programas de control, así como los tratamientos de verano que se aplican de manera metódica sin conocer la consecuencia de esta práctica.

La actividad ganadera requiere de una urgente re-formulación de los programas y estrategias de control antiparasitario actualmente en uso si se pretende mantener la sustentabilidad así como la productividad de los sistemas bovinos pastoriles.

Es necesario impulsar programas de control parasitario racional e integrado, los cuales deberían estar dirigidos y adecuados a cada sistema de producción y a cada establecimiento en particular, y de esta manera optimizar el uso de antihelmínticos.

BIBLIOGRAFÍA

- 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.
- Coles G. C. 2002. Cattle nematodes resistant to anthelmintics. Why so few cases? *Veterinary Research* 33: 481-489.
- Dohoo I., Martin S.W., Stryhn H., 2003. *Veterinary Epidemiologic Research*. AVC Inc. Charlottetown. Canada. 706 pp.
- Hughes P.L., Dowling A.F., Callinan A.P.L. 2007. Resistance to macrocyclic lactone anthelmintics and associated risk factors on sheep farms in the lower North Island of New Zealand. *New Zealand Veterinary Journal* 55: 177-183.
- Nari Henrioud, A. 1987. Enfoque epidemiológico sobre el diagnóstico y control de resistencia a antihelmínticos en ovinos. Ed. Hemisferio Sur (R.O.U.): 1-60
- Noordhuizen J.P.T.M., Frankena K., Thrusfield M.V., Graat E.A.M. 2001. *Application of Quantitative Methods in Veterinary Epidemiology*. Wageningen Pers, The Netherlands. 429 pp.
- Prichard R.K. 1994. Anthelmintic resistance. *Veterinary Parasitology* 54: 259-268.
- Silvestre A., Leignel V, Berrag B, Gasnier N, Humbert JF, Chartier C, Cabaret J. 2002. Sheep and goat nematode resistance to anthelmintics: pro and cons among breeding management factors. *Veterinary Research* 33: 465-

480.

- Stevenson M.A. 2004. An Introduction to Veterinary Epidemiology. EpiCentre, IVABS Massey University, Palmerston North, New Zealand.
 - Suárez V.H., Cristel S.L. 2007. Anthelmintic resistance in cattle nematode in the western Pampean Region of Argentina. *Veterinary Parasitology* 144: 111-117.
 - Suárez V.H., Lorenzo R.M. 2000. Ecology of the free living stages of cattle nematodes during estival contamination in Argentina western pampas. *Parasite (Fr)*, Vol 7, 4: 255-261
 - Suárez V.H., Lorenzo R.M. 2001. Ecología de los estadios de vida libre de los nematodos gastrointestinales bovinos en la región Semiárida Pampeana. *Investigación en Producción Animal, 1995-1999, Boletín de Divulgación Técnica* 71:130-134
 - Thrusfield M. 1986. *Veterinary Epidemiology*. Butterworth & Co. Ltd., Londres 280 pp.
 - Van Wyk J.A. 2001. Refugia-overlooked as perhaps the most potent factor concerning the development of anthelmintic resistance. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*. 68: 55-67.
 - Wayne Martín, S., Meek A., Williberg P. 1987. *Veterinary Epidemiology. Principles and Methods*. Iowa State University Press/Ames. 343p.
-

Kin, M.S.¹; Fort, M.²; de Echaide, S.T.³; Casanave, E.B.⁴

1. Professor of Chordate Biology, Department of Natural and Exact Sciences, UNLPam

2. Animal Health Laboratory, INTA, Anguil

3. INTA EEA. Rafaela

4. Professor of Animal Physiology, Department of Biology, Biochemistry and Pharmacy, National University of the South

***Brucella suis* in armadillos (*Chaetophractus villosus*) from La Pampa, Argentina**

ABSTRACT

Brucellosis is a zoonotic disease transmitted from an animal reservoir to humans. Both, wildlife and domestic animals, contribute to the spreading of these zoonosis. The surveillance of the animal health status is strictly regulated for domestic animals, whereas disease monitoring in wildlife does not exist. The aim of the present study was to provide data on the prevalence of anti-*Brucella* antibodies in *Chaetophractus villosus* from a region of La Pampa- Argentina to assess public health risks. The *C. villosus* is endemic to South America, and in Argentina it represents a food resource for human consumption. A total of 150 sera of armadillos bleeding between 2007 and 2010 were tested using buffered plate antigen test (BPAT), serum agglutination test (SAT), 2-mercaptoethanol (2-ME) and complement fixation test (CFT), for the detection of anti-*Brucella* antibodies. Antibodies to *Brucella spp.* were found in 16% (24:150) of the armadillos tested using the BPAT test. All 24 positive samples were confirmed by the SAT, 2-ME and CFT tests. Strain isolation was attempted from liver and spleen samples of two animals with positive serology. Isolates were characterized by conventional biotyping and identification of specific DNA using polymerase chain reaction (PCR). A total of 2 isolates were recovered from spleen and liver. Both of them were identified as *B. suis* biovar 1. This preliminary study provides the first report on the seroprevalence of brucellosis and describes the

first isolate of *Brucella suis* biovar 1 in *C. villosus* in Argentina.

Keywords: *Brucella suis* biotype 1; wildlife; *Chaetophractus villosus*; Xenarthra; zoonosis

La brucelosis es una enfermedad zoonótica transmitida desde un reservorio animal a los seres humanos. Ambos, animales domésticos y silvestres, contribuyen a la difusión de estas zoonosis. La vigilancia del estado de salud de los animales domésticos está estrictamente regulado, pero el monitoreo de la enfermedad en la fauna silvestre no existe. El objetivo del presente estudio es proporcionar datos sobre la prevalencia de anticuerpos anti-*Brucella* en *Chaetophractus villosus* en una región de La Pampa, Argentina, para evaluar los riesgos de salud pública. *C. villosus* es endémico de América del Sur y en la Argentina representa una fuente de alimento para el consumo humano. Un total de 150 muestra de suero de armadillos, entre 2007 y 2010 se pusieron a prueba utilizando la prueba en placa de antígeno bufferado (BPA), prueba de aglutinación en suero (SAT), 2-mercaptoetanol (2-ME) y de fijación del complemento (FC) para la detección de anticuerpos anti-*Brucella*. Los anticuerpos contra *Brucella sp.* se encontraron en el 16% (24:150) de los armadillos examinados usando la prueba BPA. Las 24 muestras positivas fueron confirmadas por SAT, 2-ME y la prueba FC. Los aislamientos se intentaron en muestras de hígado y bazo de dos animales con serología positiva. Los aislamientos

se caracterizaron por biotipificación convencional y la identificación de ADN específica utilizando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). El total de 2 aislamientos fueron recuperados del bazo y del hígado. Ambos fueron identificados como *B. suis* biovar 1. Este estudio preliminar proporciona el primer informe sobre la seroprevalencia de brucelosis y describe el primer aislamiento de *Brucella suis* biovar 1 en *C. villosus* en Argentina.

**El trabajo completo está publicado en la revista
Veterinary Microbiology**

La cita completa es:

Marta S. Kin, Marcelo Fort, Susana T. de Echaide and Emma B. Casanave. 2014. *Brucella suis* in armadillos (*Chaetophractus villosus*) from La Pampa, Argentina. *Veterinary Microbiology* 170: 442-445.

Poggio Herrero, I.V.^{1,2}; Mariamé, M.P.¹; Rodríguez, C.¹; Fanelli, S.L.^{1,3}; Porta, A.⁴; Fort, M.⁵; Mastrantonio Garrido, G.^{1,2}

1. Área Toxicología, Dep. Quím. Fac. Cs. Ex. y Nat. UNLPam

2. Área Toxicología, Dep. Cs. Biológicas, Fac. Cs. Exactas, UNLP

3. Instituto de Limnología "Dr. Raúl A. Ringuelet" (ILPLA), CONICET-UNLP

4. Centro de Investigaciones del Medioambiente (CIMA). Fac. Cs. Exactas, UNLP

5. EEA-INTA Anguil

Aplicación de bioensayos a la evaluación ecotoxicológica de efluentes de tambo

RESUMEN

Las aguas residuales de tambo son consideradas mezclas complejas integradas, principalmente, por sustancias excretadas por los animales y productos de limpieza. El objetivo de este trabajo fue evaluar la toxicidad de efluentes producidos durante el lavado en un tambo ovino. Para esto se aplicaron bioensayos con dos especies: *Daphnia magna* e *Hydra plagiodesmica* y se testearon muestras de efluente crudo y aireado. Los resultados mostraron una importante sensibilidad de ambas especies, sin embargo las especies no responden de igual manera ante las muestras. El efluente crudo presentó siempre niveles altos de toxicidad y la toxicidad disminuyó significativamente luego de airear las muestras lo que indica una significativa presencia de tóxicos oxidables y/o volátiles.

INTRODUCCIÓN

El manejo incorrecto de los efluentes rurales es una fuente potencial de riesgos ambientales, tanto en el sitio de disposición directa, como en otros más alejados a los que llegara por drenaje superficial o por infiltración. El impacto ambiental más evidente y conocido está asociado al alto contenido de nitrógeno y fósforo y su capacidad de generar eutrofización de los cuerpos de agua superficial. Sin embargo las aguas residuales están constituidas por una gran variedad de sus-

tancias que las convierten en mezclas complejas. En los últimos años se ha comenzado a indagar acerca de la incidencia de una gran variedad de sustancias orgánicas antes no consideradas, valorándose la detección de antibióticos, antiectoparasitarios, hormonas, y otros compuestos utilizados como aditivos presentes en los formulados de medicamentos y alimentos balanceados (Halling-Sorensen et al., 1998; Eguchi et al., 2004). Es en este contexto, que algunos autores han volcado su interés hacia la evaluación de estos componentes minoritarios de la fracción orgánica de las aguas residuales de diferentes orígenes, asumiendo el hecho de que estas sustancias son en su mayoría bioactivas y a priori puede sospecharse que su aporte al impacto global, sería significativo (Eguchi et al., 2004). Para estas sustancias no existe una apropiada evaluación del riesgo ambiental, y si bien su vertido en general se realiza en pequeñas concentraciones, su aporte continuo hace necesario su estudio.

En los sistemas pecuarios estos compuestos y sus metabolitos ingresan a los líquidos residuales debido a que, luego de su administración a los animales, son excretados sin degradar o bajo la forma de metabolitos bioactivos a través de la orina y las heces. A su vez, durante el proceso de lavado de los establecimientos tamberos se incorporan agentes desinfectantes a la mezcla.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la toxicidad de efluentes producidos durante el lavado en un tambo ovino, como información preliminar

necesaria para la evaluación del impacto de contaminantes emergentes particulares de este tipo de residuos líquidos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se trabajó sobre muestras de efluentes provenientes del tambo ovino experimental de la EEA-INTA Anguil. Durante un lapso de seis meses, entre diciembre de 2013 y mayo de 2014, se colectaron 12 muestras simples del efluente generado durante el lavado del establecimiento en envases plásticos y se las conservó a 4°C hasta el momento del testeo. De cada muestra una fracción del efluente fue testeado tal como se los colectó (muestra cruda) y otra fracción fue sometida a aireación a temperatura ambiente durante 24 hs antes de ser testeada (EPA, 1991).

Las especies que se utilizaron para los test fueron *Daphnia magna* e *Hydra plagiodesmica*, tanto la cría como los ensayos fueron realizados acorde a Morales (2004), seleccionándose ensayos considerados estándar para la evaluación de efluentes. Con ambas especies, los ensayos se realizaron por triplicado sobre las muestras puras (100%) y sobre las diluciones 50%, 25%, 12,5% y 6,25%. El ensayo con *D. magna* consistió en exponer 5 neonatos (<24 h de edad) por réplica y se evaluó inmovilidad a las 48h. En los ensayos con *H. plagiodesmica* se expusieron 3 individuos por réplica y se evaluó la condición morfológica a las 96 h, en busca de cambios letales. Con los datos obtenidos se estimó para *D. magna* la concentración efectiva que causó inmovilización en el 50% de los individuos (CE_{50-48h}) y para *H. plagiodesmica* se estimó la concentración que causó la muer-

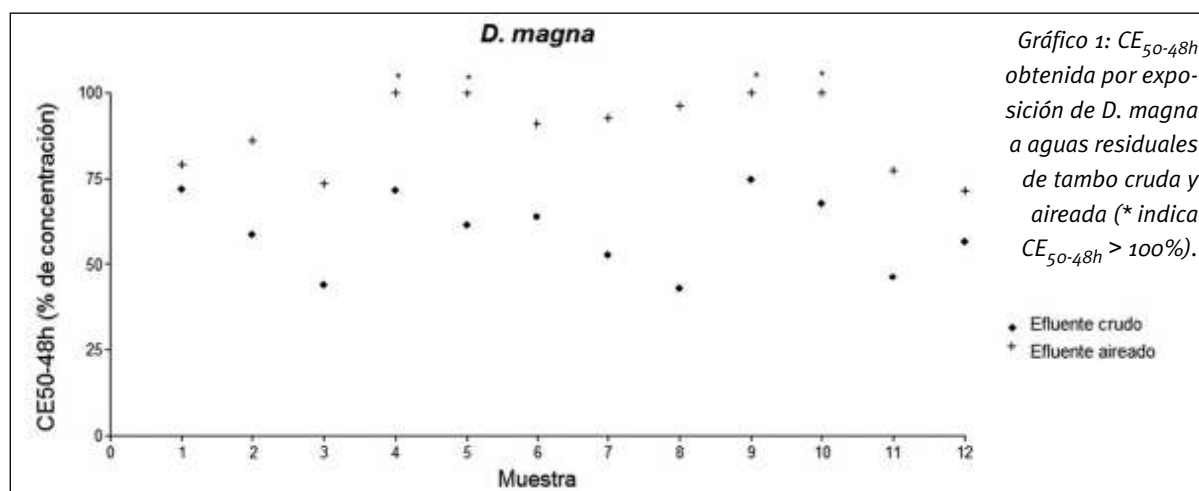
te o la aparición de cambios letales del 50% de los individuos (CL_{50-96h}). Para estas estimaciones se utilizó la metodología PROBIT (Morales, 2004). Tanto para evaluar la diferencia de respuesta entre especies como el cambio de la toxicidad luego de airear las muestras se empleó la Prueba T para datos pareados (InfoStat, versión 2008).

RESULTADOS

Ver Gráficos 1, 2 y 3.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos al momento muestran una importante sensibilidad de las especies *D. magna* e *H. plagiodesmica* a las aguas residuales de tambo (gráficos 1 y 2), sin embargo las especies no responden de igual manera a los cambios de composición del efluente, registrándose diferencias significativas entre la CE_{50-48h} obtenida para *D. magna* y la CL_{50-96h} obtenida para *H. plagiodesmica* (crudo: $p=0,01$; aireado: $p=0,0059$). Respecto al efluente crudo todas las muestras presentaron niveles altos de toxicidad (CE_{50-48h} de 43 a 72% para *D. magna* y CL_{50-96h} de 32 a 79% para *H. plagiodesmica*). La aireación del efluente generó una disminución significativa de la toxicidad respecto de la muestra cruda ($p<0,0001$), con un abatimiento de entre el 10 y 126% para *D. magna* y entre 19 y 138% para *H. plagiodesmica* (gráfico 3). Esta respuesta a la aireación indica que la presencia de tóxicos oxidables o volátiles en el efluente representa una fracción significativa de la composición tóxica total, con grandes variaciones a lo largo del período de



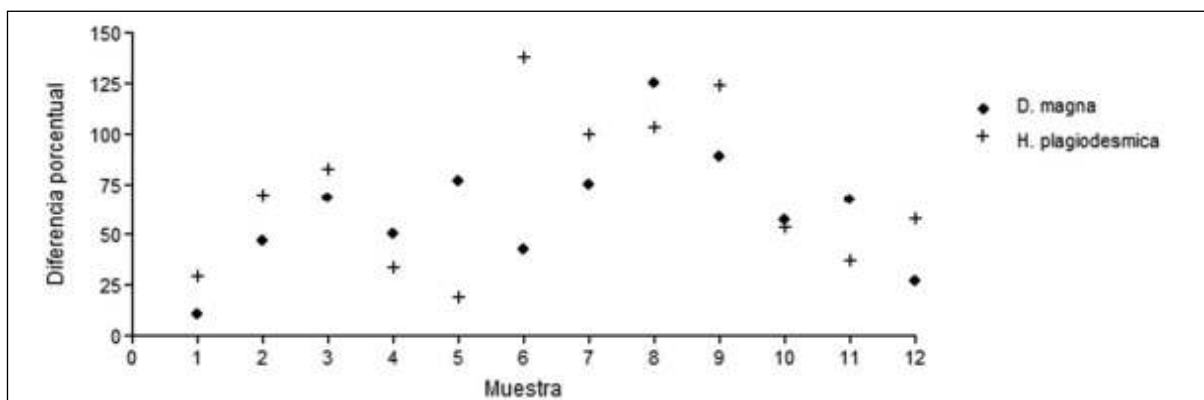
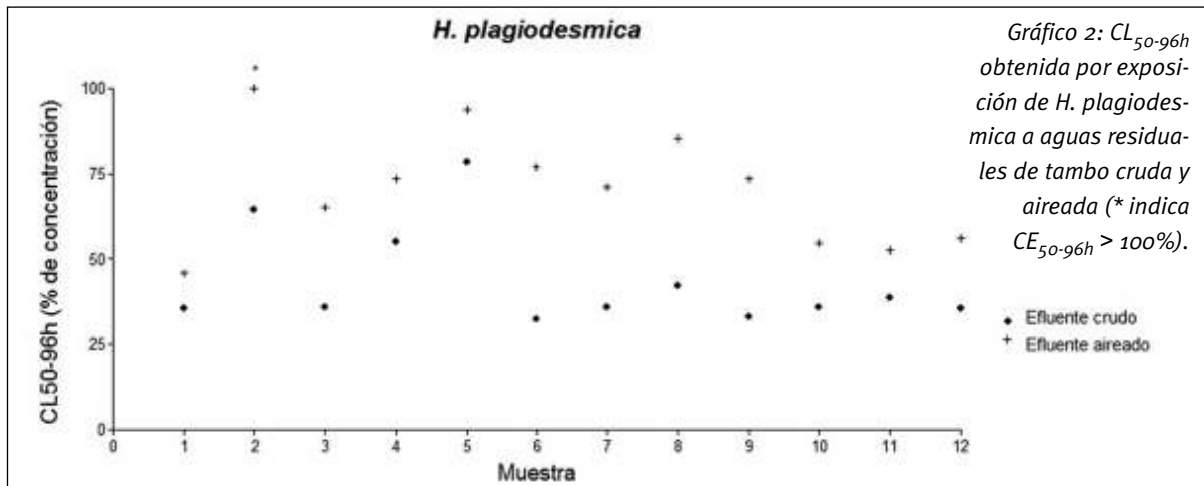


Gráfico 3: Disminución de la toxicidad (porcentual) por aireación.

muestreo.

Los resultados obtenidos indican la necesidad de continuar con la investigación, indagar el impacto de los regímenes de manejo del tambo en la toxicidad e identificar otras fracciones que aportan a la toxicidad del efluente. Así mismo, ponen en evidencia la problemática asociada a los vertidos de aguas residuales sin tratamiento en los establecimientos pecuarios y la necesidad de gestionar su manejo para disminuir los impactos asociados a su descarga.

BIBLIOGRAFÍA

• Eguchi, K., H. Nagase, M. Ozawa, Y. S. Endoh, K. Goto, K. Hirata, K. Miyamoto and H. Yoshimura. 2004. "Evaluation of antimicrobial agents for veterinary use in

the ecotoxicity test using microalgae." *Chemosphere* 57: 1733-1738.

• EPA, U. S. 1991. *Methods for Aquatic Toxicity Identification Evaluations - Phase I Toxicity Characterization Procedures* - EPA/600/6-91/003 (Second edition).

• Halling-Sorensen, B., S. N. Nielsen, P. F. Lanzky, F. Ingerslev, H. C. H. Liitzhofl and S. E. Jorgensen. 1998. "Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment- A review." *Chemosphere* 36: 357-393.

• Morales, G. C., Ed. 2004. *Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones*. México, Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo - Instituto Mexicano de Tecnología del Agua.